DIE STRUKTUR DES ANTIBIOTICUMS RORIDIN H

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
Peter Martin Traxler
von Balterswil (Kt. Thurgau)
Basel 1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0004

DIE STRUKTUR DES ANTIBIOTICUMS RORIDIN H

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
Peter Martin Traxler
von Balterswil (Kt. Thurgau)
Basel 1970

Teningen/Baden 1970
Heinrich Blum – Offsetdruck

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren Dr. Ch. Tamm
Dr. C.A. Grob

Basel, den 10. Februar 1970

Fallab

Prof. Dr. S. Fallab
Dekan

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die vorliegende Arbeit wurde in den Laboratorien des Instituts für Organische Chemie der Universität Basel unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Ch. Tamm ausgeführt.

Herrn Professor Tamm danke ich an dieser Stelle herzlich für das grosse Interesse, das er dieser Arbeit entgegenge - bracht hat, für seine stete Hilfsbereitschaft und Unter - stützung.

Meinen lieben Eltern in

Dankbarkeit gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

Theoretischer Teil

		Seite
1.	Einführung	1
	1.1. Isolierung und Struktur der Verrucarine und Roridine	1
	1.2. Vorgeschichte von Roridin H	4
	1.3. Problemstellung	7
2.	Charakterisierung von Roridin H	8
	2.1. Isolierung	8
	2.2. Bruttoformel	12
	2.3. Funktionelle Gruppen	16
	2.4. Hydrolytische Spaltungen	22
3.	Isolierung, Charakterisierung und Konstitution der Hydrolysenprodukte von Roridin H	25
	3.1. Verrucarol (8) und Dihydroverrucarol (9)	25
	3.2. Myrothecinsäure (3)	25
	3.3. Hexahydromyrothecinsäure (5)	36
4.	Abbaureaktionen	45
	4.1. Ozonolyse von Myrothecinsäure-dimethylester (4)	45
	4.2. Abbau von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6)	45
	4.2.1. Acetalspaltung	46
	4.2.2. Hydrazonspaltung und Oxidation von Glutarsäurealdehyd (10)	54
	4.2.3. Spaltung des Diols mit Perjodsäure	56

Seite

5. Verknüpfung der Hydrolysenprodukte 60

Experimenteller Teil 65

Allgemeines 65

1. Roridin H (1) und Octahydrororidin H (2) 66

1.1. Züchtung und Isolierung von Roridin H (1) 66
1.2. Charakterisierung von Roridin H (1) 67
1.3. Octahydrororidin H (2) aus Roridin H (1) 68

2. Hydrolytische Spaltungen 69

2.1. Hydrolyse von Roridin H (1) 69
2.2. Hydrolyse von Octahydrororidin H (2) 72

3. Myrothecinsäure (3) und Derivate der Myrothecinsäure (3) 73

3.1. Myrothecinsäure (3) 73
3.2. Myrothecinsäure-dimethylester (4) 73
3.3. Hexahydromyrothecinsäure (5) 74
3.4. Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) 74
3.5. p-Brom-phenacylester (7) von Hexahydromyrothecinsäure (5) 75
3.6. Hydrierung von Myrothecinsäure-dimethylester (4) 75

4. Abbaureaktionen

4.1. Ozonolyse von Myrothecinsäure-dimethylester (4) 75
4.2. Acetalspaltung von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) 76
4.3. Charakterisierung der Bruchstücke der Acetalspaltung 78

4.3.1. 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13) 78

Seite

4.3.2. 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11) 79

4.3.3. p-Nitrobenzoat (12) von 6,7-Dihydroxy-octansäure-methylester (11) 79

4.4. Hydrazonspaltung und Oxidation von 3-Methyl-glutarsäurealdehyd (10) 80

4.5. Spaltung von 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11) mit Perjodsäure 82

4.5.1. Isolierung des Acetaldehyds als Dimedon-derivat 82

4.5.2. Isolierung der Adipinsäure (19) 83

Anhang

Versuche zur Bestimmung der absoluten Konfiguration der (-)-2-Methylpimelinsäure 84

1. (±) -trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat 84

2. Optisch aktives trans-2-Methylcyclohexanol 84

3. (-)-2-Methylcyclohexanon 85

4. (-)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon 86

5. (-)-2-Methylpimelinsäure 86

Literaturverzeichnis 88

Zusammenfassung 91

Curriculum vitae 94

Theoretischer Teil

1. Einführung

1.1. Isolierung und Struktur der Verrucarine und Roridine

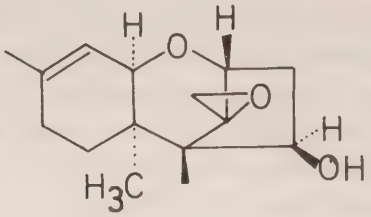
Aus Kulturen verschiedener Stämme von Myrothecium verrucaria und Myrothecium roridum haben Tamm et al. in den vergangenen Jahren zahlreiche neue Metabolite isoliert, welche Verrucarine und Roridine genannt wurden [1] [2] [3].

Die Züchtung der Mikroorganismen erfolgt auf Nährböden, welche die üblichen Nährstoffe enthalten. Sie kann in ruhender Oberflächenkultur oder submers unter Schütteln oder Rühren mit Luft oder Sauerstoff in Fermentern vorgenommen werden. Die Antibiotica lassen sich aus den Kulturfiltraten oder dem Mycel mit Aethylacetat extrahieren. Die Trennung der Rohextrakte in ihre Komponenten und die Isolierung der reinen Stoffe gelingt mit Hilfe der Chromatographie an Kieselgelsäulen.

Die Verrucarine und Roridine besitzen antifungische und hohe cytostatische Aktivitäten in vivo und in vitro gegen experimentelle Tumoren. Sie zeichnen sich aber auch durch grosse Toxizität aus [4]. Die Vertreter dieses Antibiotica-Komplexes lassen sich in drei chemische Gruppen einteilen.

Die erste Gruppe enthält neutrale, lipophile Verbindungen mit 27 bis 29 Kohlenstoffatomen und 8 bis 9 Sauerstoffatomen. In diese Gruppe gehören: Verrucarin A [5], Verrucarin B [6], Verrucarin J [7], 2'-Dehydroverrucarin A [3], Roridin A [8], Roridin D [9], Roridin E [10] und Roridin C [11] (vgl. Formelschema 1). Ihre Strukturen wurden von Tamm et al. aufgeklärt. Die in dieser Gruppe zusammengefassten Verrucarine und Roridine besitzen alle den Sesquiterpenalkohol Verrucarol [11] als gemeinsamen Baustein. Die Verrucarine sind makrozyklische

Triester und die Roridine makrozyklische Diester von Verrucarol. Ihre Unterschiede liegen lediglich im Bau bzw. in der Oxydationsstufe des Säureanteils der Molekel, insbesondere an den Kohlenstoffatomen C-2' und C-3'. Verrucarin A und Roridin A besitzen an C-2' eine Hydroxylgruppe. In Verrucarin B und in Roridin B ist sie durch den 2',3'-Oxiranring ersetzt, und in Verrucarin J und in Roridin E liegen die 2'-Anhydroderivate vor. 2'-Dehydroverrucarin A [3] enthält an C-2' eine Ketogruppe. Roridin C (= Trichodermol) [11] hat sich als 15-Desoxyverrucarol erwiesen und gehört deshalb auch in diese Gruppe.



Roridin C
(= Trichodermol) [11]

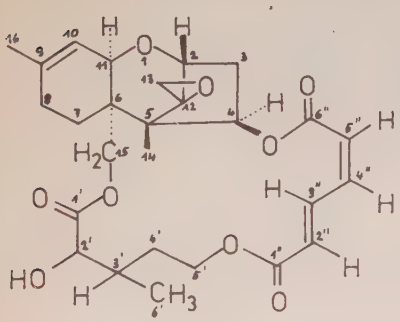
Die Strukturen der Verbindungen der zweiten und dritten Gruppe sind erst teilweise aufgeklärt worden.

In der zweiten Gruppe sind die stickstoffhaltigen Nebenmetabolite enthalten. Zu ihnen gehört das Verrucarin E [12]. Es ist ein Abkömmling des Pyrrols.

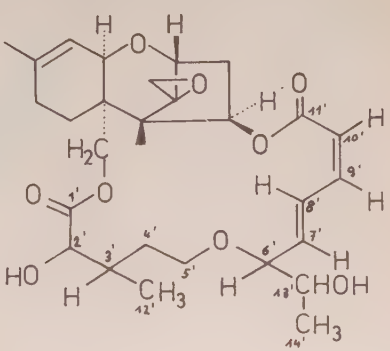
Die dritte Gruppe besteht aus Metaboliten verschiedener Zusammensetzung. Es handelt sich zum Teil um Sterole, z.B. um Ergosterol (= Roridin B) [13], teils um Verbindungen, die anderen Stoffklassen angehören [13].

Die aus Kulturen dieser Stämme ebenfalls noch isolierten Stoffe Verrucarin C, Verrucarin F und Verrucarin G [1] wurden

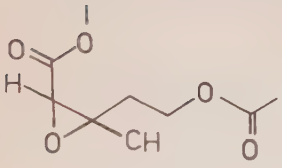
Formelschema 1: Strukturformeln der C_{27-29}-Verrucarine und-Roridine



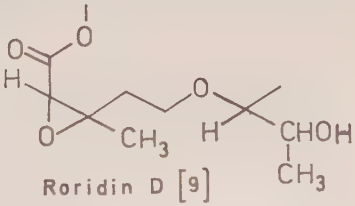
Verrucarin A [5]



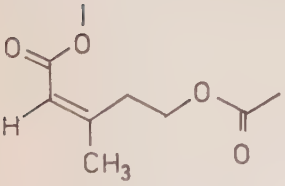
Roridin A [8]



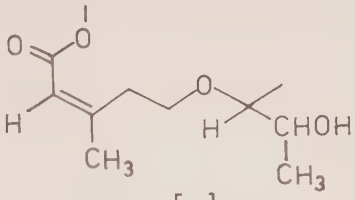
Verrucarin B [6]



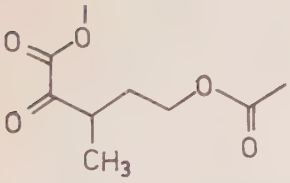
Roridin D [9]



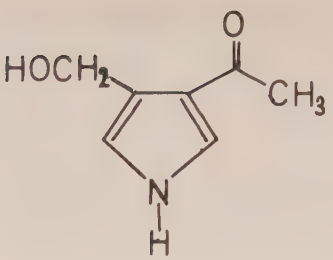
Verrucarin J [7]



Roridin E [10]



2'-Dehydroverrucarin A [3]



Verrucarin E [12]

nur in so kleinen Mengen erhalten, dass eine Strukturaufklärung bisher nicht möglich war.

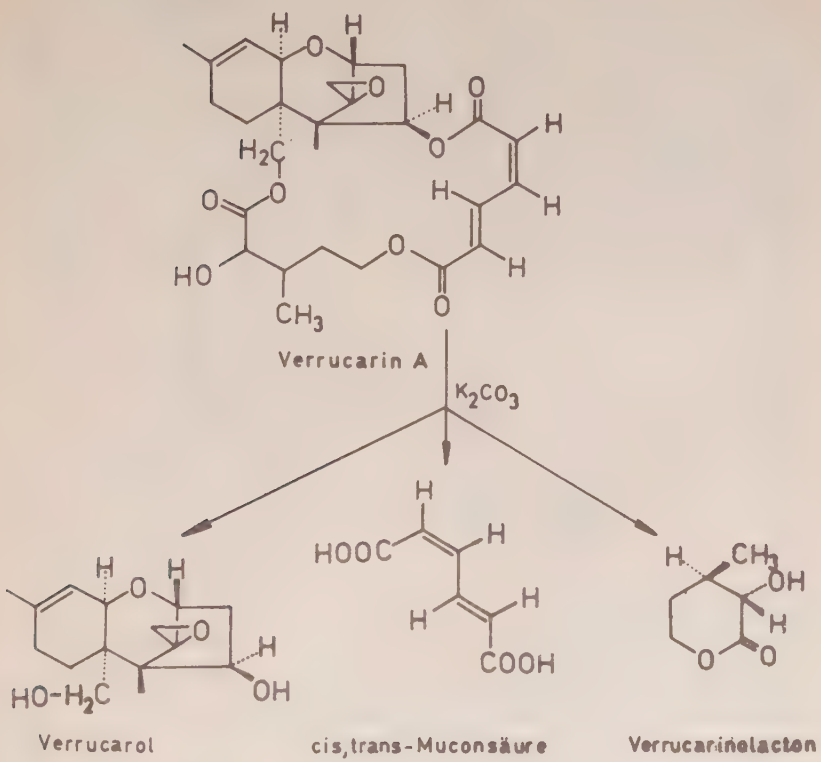
Die alkalische Hydrolyse der Verrucarine und Roridine bildet jeweilen die Schlüsselreaktion für ihre Strukturaufklärung. So liefert z.B. die Hydrolyse von Verrucarin A (vgl. Formelschema 2) neben Verrucarol die Verrucarinsäure, die als Lacton isoliert wurde (Sequenz C-1' bis C-5') und die cis-trans-Muconsäure (Sequenz C-1'' bis C-6'') [5].

In der folgenden Arbeit wird darum die C-1' bis C-5'-Sequenz (inkl. C-6') oft als "Verrucarinsäure-Teil" und die C-1'' bis C-6''-Sequenz bei Verrucarinen und C-6' bis C-11'-Sequenz bei Roridinen als "Muconsäure-Teil" bezeichnet, um die strukturelle Verwandtschaft dieser Teilstrukturen mit der Verrucarinsäure bzw. der cis-trans-Muconsäure klarer hervortreten zu lassen.

1.2. Vorgeschichte von Roridin H

Roridin H wurde erstmals aus dem Mycel des Stammes S 1198 vom Myrothecium verrucaria isoliert [2]. Damals wurde es als Verrucarin H bezeichnet. Die jetzt vorgenommene Umbenennung

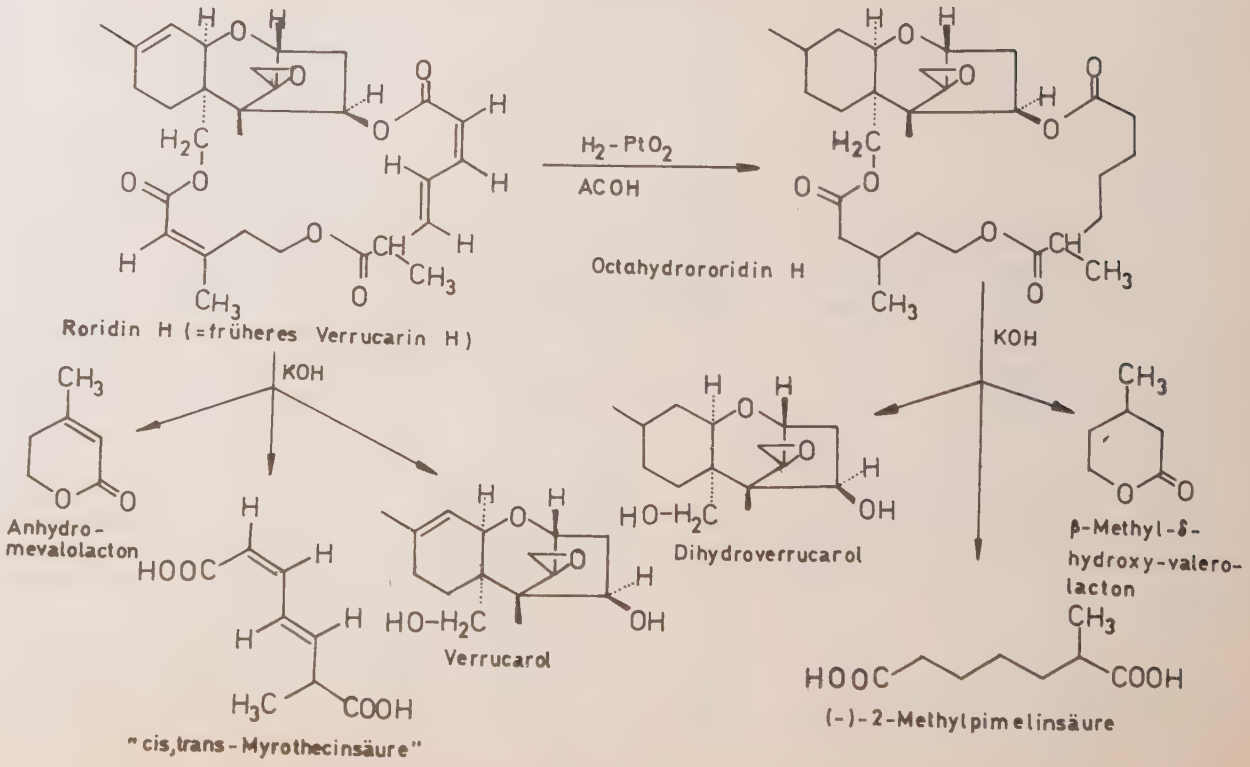
Formelschema 2: Hydrolyse von Verrucarin A [5]



in Roridin H ist im Hinblick auf die durch diese Arbeit bewiesene Struktur angezeigt. Roridin H ist der Hauptmetabolit dieses Stammes. Daneben treten noch Roridin E, das hauptsächlich aus dem Kulturfiltrat isoliert wurde, Verrucarin A, B und J sowie Roridin D und A auf. Die Stoffwechselprodukte lassen sich alle mit Essigester leicht extrahieren. Roridin H zeigt ähnliche fungistatische und cytostatische Aktivitäten wie die anderen Verrucarine und Roridine.

Um die Struktur von Roridin H aufzuklären, führte Fetz [14] die folgenden Versuche durch (siehe Formelschema 3): Bei

Formelschema 3: Hydrolyse von Roridin H (alte Formel) [14]



der katalytischen Hydrierung erhielt er ein Octahydroderivat. Die alkalische Hydrolyse von Roridin H lieferte drei Bruchstücke: Verrucarol, Anhydromevalolacton aus dem "Verrucarinsäure-Teil" und aus dem "Muconsäure-Teil" eine C_8-Säure, die "Myrothecinsäure" genannt wurde. Sie konnte wegen ihrer Zersetzlichkeit nicht rein isoliert werden. Die analoge Hydrolyse von Octahydroverrucarin H ergab Dihydroverrucarol, β-Methyl-δ-hydroxy-valerolacton und (-)-2-Methyl-pimelinsäure. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde damals Roridin H nebenstehende Struktur zugeteilt.

1.3. Problemstellung

Die Aufgabe dieser Arbeit bestand anfänglich darin, die absolute Konfiguration der von Fetz erhaltenen (-)-2-Methyl-pimelinsäure aufzuklären, d.h. des chiralen C-Atoms Nr. 2'' von Roridin H. In einem zweiten Teil sollten Versuche zur Biosynthese von Roridin H durchgeführt werden.

Für die Aufklärung der absoluten Konfiguration von (-)-2-Methyl-pimelinsäure wurde wie folgt vorgegangen (siehe Formelschema 4): Ein Gemisch von (±)-cis,trans-2-Methyl-cyclohexanol wurde in sein Phtalat übergeführt. Daraus wurde durch Umkristallisation (±)-trans-2-methyl-cyclohexanyl-phtalat gewonnen [15]. Dieses wurde durch eine Racematspaltung mit Hilfe von Strychnin in seine optisch aktiven Antipoden gespalten [16]. Die Verseifung der beiden reinen optisch aktiven Phtalate lieferte optisch reines trans-2-Methyl-cyclohexanol, das nach Curtis et al. [17] und Beard et al. [18] zu 2-Methyl-cyclohexanon oxydiert wurde. Eine Oxalesterkondensation [19] [20] mit anschliessender Decarbonylierung [20] [21] ergab 6-Carbäthoxy-2-methyl-cyclohexanon, das immer noch optische Aktivität zeigte. Eine Ringöffnung mit nachfolgender Hydrolyse [22] sollte optisch aktive 2-Methyl-pimelinsäure liefern, deren Drehwert mit dem der bei der Hydrolyse von Octahydrororidin H

erhaltenen Säure verglichen werden sollte. In der letzten Stufe trat aber fast vollständige Racemisierung ein, so dass ein Vergleich der optischen Drehwerte nicht mehr eindeutig war. Immerhin zeigte die aus (+)-trans-2-Methylcyclohexanol hergestellte Säure einen schwach positiven Drehwert und die analog aus (-)-trans-2-Methylcyclohexanol dargestellte Säure einen schwach negativen Drehwert. (Experimentelles siehe im Anhang des experimentellen Teils).

Bei der Wiederholung der hydrolytischen Spaltungen von Roridin H und von Octahydrororidin H liessen sich aber die früheren Versuche [14] nicht reproduzieren. Die (-)-2-Methylpimelinsäure und auch das β-Methyl-δ-hydroxy-valerolacton konnten nicht mehr isoliert werden. Es traten deshalb Zweifel an den früheren Resultaten und der für Roridin H vorgeschlagenen Struktur auf.

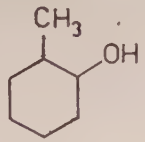
Die Aufgabe der vorliegenden Dissertation bestand nun darin, diese Diskrepanzen abzuklären, um zu einer eindeutigen Struktur von Roridin H zu gelangen.

2. Charakterisierung von Roridin H

2.1. Isolierung

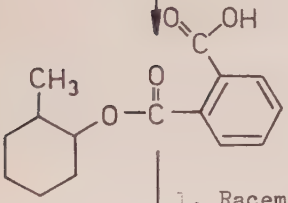
Roridin H wurde durch Essigesterextraktion einer Kulturbrühe von Myrothecium verrucaria (Stamm S 1198) gewonnen. Die Trennung und Isolierung von Roridin H in reinen Kristallen gelang durch zweimalige Chromatographie des Rohextrakts an Kieselgelsäulen und durch Umkristallisieren. Zur Reinheitsprüfung wurden die Dünnschichtchromatographie, das IR.-und das NMR.-Spektrum herangezogen. Das so isolierte und charakterisierte Roridin H war nach allen Kriterien identisch mit früher isoliertem Präparat [2] [14].

Formelschema 4: Synthese von opt. akt. 2-Methylpimelinsäure



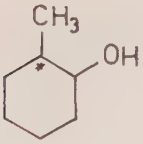
(±)-cis,trans-2-Methylcyclohexanol

1. Phtalsäureanhydrid
2. Frakt. Umkrist.



(±)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat

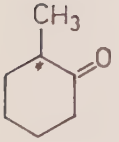
1. Racematspaltung mit Strychnin
2. OH^-



(+)-trans-2-Methylcyclohexanol
$[\alpha]_D^{23} = + 35,4^\circ \pm 1^\circ$ (c = 0,758 in Chloroform)

(-)-trans-2-Methylcyclohexanol
$[\alpha]_D^{23} = - 36,0^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1.983 in Chloroform)

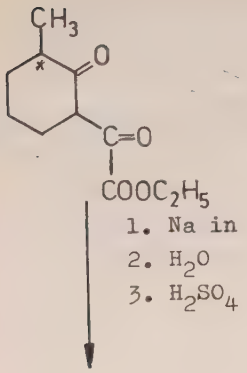
CrO_3 in Aceton



(+)-2-Methylcyclohexanon
$[\alpha]_D^{23} = + 14,0^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1,324 in Methanol)

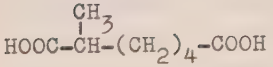
(-)-2-Methylcyclohexanon
$[\alpha]_D^{23} = - 14,5^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1.130 in Methanol)

1. $(COOC_2H_5)_2$ in $NaOC_2H_5$
2. H_3O^+
3. Glaspulver/ 150°



(+)-6- Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon
$[\alpha]_D^{23} = + 3{,}26^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1.87 in Chloroform)

(-)-6- Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon
$[\alpha]_D^{23} = + 2{,}30^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1.013 in Chloroform)



(+)-2-Methylpimelinsäure
$[\alpha]_D^{23} = + 0{,}7^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1,421 in Chloroform)

(-)-2-Methylpimelinsäure
$[\alpha]_D^{23} = - 0{,}74^\circ \pm 1^\circ$ (c = 3,36 in Chloroform)

Aus den verschiedenen Fraktionen der Säulenchromatographie wurden noch die folgenden Metabolite isoliert: Verrucarin A, Roridin D und Roridin E. Verrucarin B und Verrucarin J waren ebenfalls vorhanden, wurden aber nicht isoliert, sondern nur im Dünnschichtchromatogramm nachgewiesen (vgl. Fig. 1 und Tab. 1).

Roridin H kristallisiert in farblosen Nadeln. Es zeigt wie Verrucarin A und B keinen definierten Schmelzpunkt. Bei ca. 220° beginnt es sich gelb zu verfärben, bei ca. 270° tritt langsame Zersetzung ein. Unter 325° schmilzt die Substanz nicht. Auffallend ist die starke Abhängigkeit der optischen Drehwerte vom Lösungsmittel: $[\alpha]_D^{23} = + 31^\circ$ in Chloroform, $[\alpha]_D^{23} = + 40^\circ$ in Benzol und in Dioxan $[\alpha]_D^{23} = + 31^\circ$. Diese Daten stimmen nur zum Teil mit den früher von Fetz [14] gefundenen Werten überein. Er hatte gefunden: $[\alpha]_D^{23} = + 32^\circ$ in Chloroform, $[\alpha]_D^{23} = + 60^\circ$ in Benzol und $[\alpha]_D^{23} = + 42^\circ$ in Dioxan.

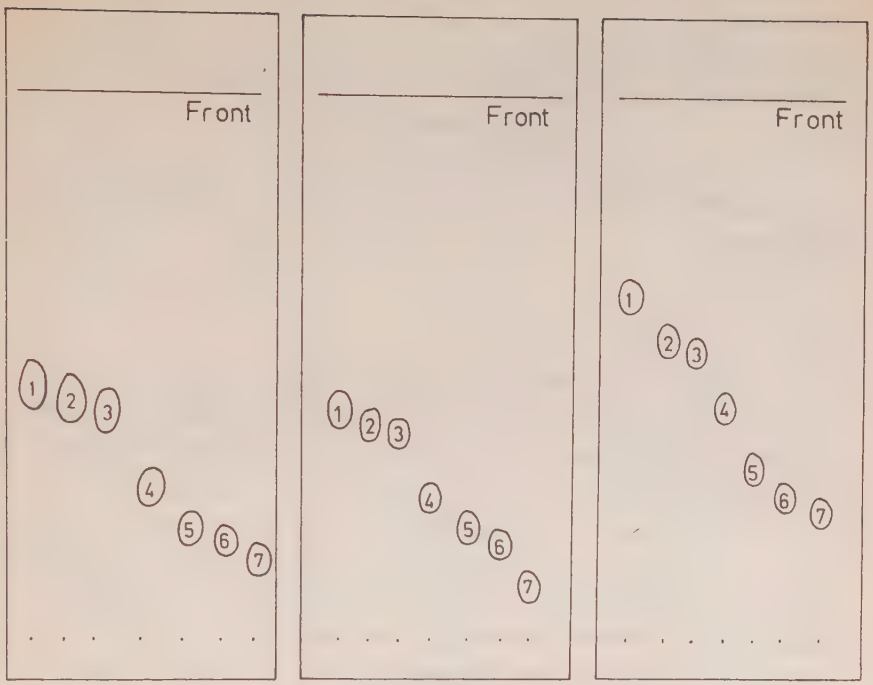


Fig. 1 Dünnschichtchromatogramme der Verrucarine und Roridine

Tab. 1 Rf-Werte im Dünnschichtchromatogramm

Fleck	Substanz	Rf-Werte[2]		
		a)	b)	c)
1	Roridin H	0.45	0.41	0.64
2	Verrucarin J	0.43	0.38	0.55
3	Verrucarin B	0.40	0.37	0.53
4	Verrucarin A	0.25	0.25	0.42
5	Roridin E	0.19	0.19	0.31
6	Roridin D	0.17	0.16	0.25
7	Roridin A	0.13	0.08	0.23

2) Die Rf-Werte können variieren.

Träger: Kieselgel G

Fliessmittel: a) Methylenchlorid-Methanol-(100:2)

b) Benzol-Tetrahydrofuran-(85:15)

c) Aether, zweimal [3]

Die Flecke wurden durch UV-Licht oder durch J_2-Dämpfe sichtbar gemacht.

2.2. Bruttoformel

Die Bestimmung der Bruttoformel bereitete anfänglich einige Schwierigkeiten. Die vaporometrische Molekulargewichtsbestimmung nach Simon & Tomlinson [23], in Methylenchlorid als Lösungsmittel, ergab das Molekulargewicht 490 ± 25 [1]. Zahlreiche Elementaranalysen ergaben alle übereinstimmend Werte, die am besten auf die Bruttoformel $C_{27}H_{34}O_8$ (MG 486,6) passten. Erst die Aufnahme eines hochauflösenden Massenspektrums [4] (vgl. Fig. 3) zeigte eindeutig, dass Roridin H das Molekulargewicht 512 besitzt. Das Molekel-Ion wurde nämlich bei m/e 512,244346 ± 0,011 gefunden. Als Bruttoformel kommt damit nur $C_{29}H_{36}O_8$ in Frage. Dieses Molekulargewicht wurde auch durch ein hochauflösendes Massenspektrum von Octahydrorororidin H bestätigt, indem dort das Molekel-Ion bei m/e 520,302786 ± 0,011 gefunden wurde. Auf Grund der im folgenden beschriebenen Reaktionen erteilen wir Roridin H die Strukturformel 1.

---

3) Man liess den Aether wie üblich bis zur oberen Front wandern, trocknete hierauf die Platte kurz an der Luft und wiederholte den Vorgang.

1) Zu den früher durchgeführten Versuchen vgl. [14].

4) Wir danken Herrn Dr. H. Lichti, Sandoz A.G., Basel, für die Aufnahme dieses Massenspektrums.

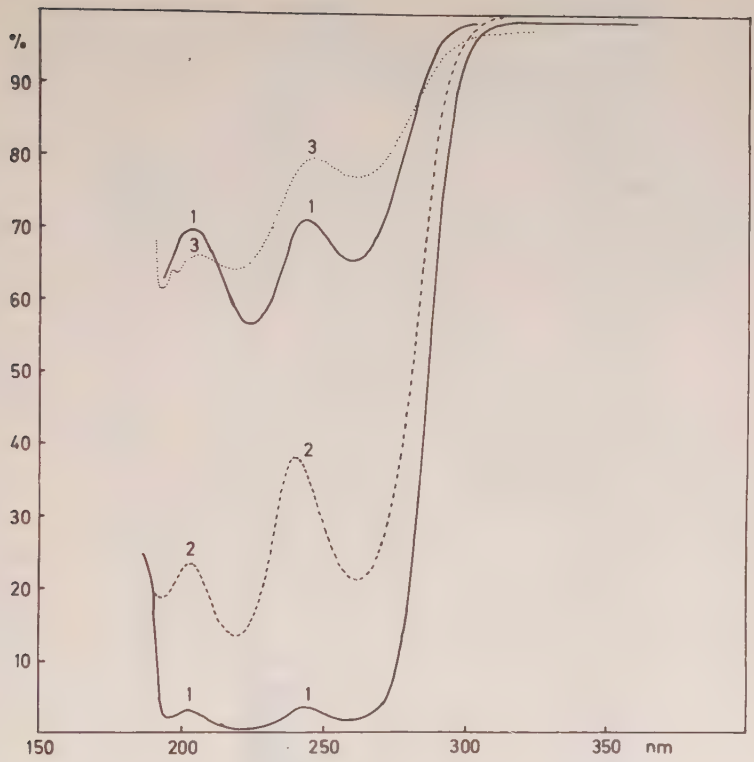


Fig. 2: UV.-Absorptionsspektren in Aethanol [5]

Kurve 1: Roridin H: λ_{max} = 195 (4,2); 224 (4,39); 260 (4,26)nm
Kurve 2: Verrucarin J: λ_{max} = 196(4,19); 219(4,30); 262(4,16)n
Kurve 3: Roridin E: λ_{max} = 195 (4,2); 223 (4,4); 263 (4,3)nm
(in Klammern log ε - Werte)

---

5) Aufgenommen mit einem BECKMANN - Spektrophotometer, Mod. DK 2, im Institut (K. Aegerter).

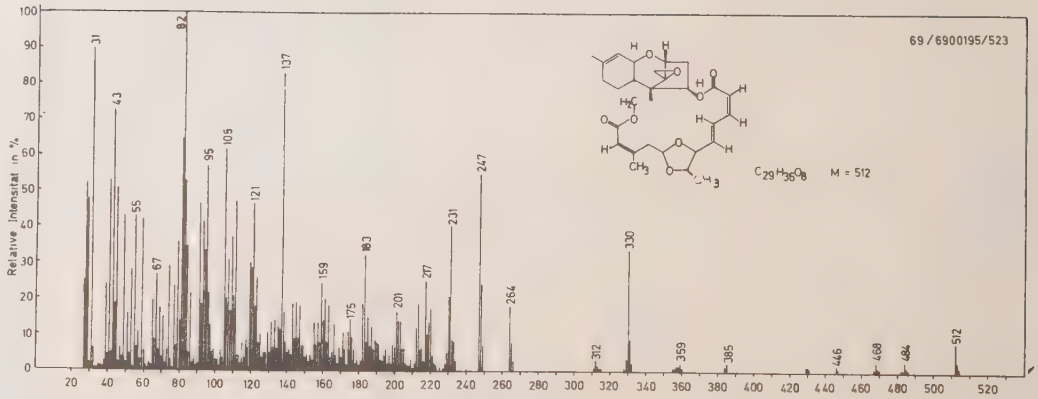


Fig. 3: Massenspektrum von Roridin H (1) [6]

6) Aufgenommen mit einem CEC-Massenspektrometer 21-110 B der Firma Sandoz A.G., Basel.

Genaue Massen von Bruchstücken im Massenspektrum von Roridin H (1)

m/e	relative Intensität in %	Masse gef.	Bruttoformel
512	7	512,2443	$C_{29}H_{36}O_8$ (M^+)
330	33	330,1858	$C_{20}H_{26}O_4$
264	18	264,0981	$C_{14}H_{16}O_5$
248	24	248,1418	$C_{15}H_{20}O_3$
247	55	247,1331	$C_{19}H_{19}O_3$
231	40	231,1390	$C_{15}H_{19}O_2$
230	20	230,1301	$C_{15}H_{18}O_2$
220	17	220,0729	$C_{12}H_{12}O_4$
217	25	217,1235	$C_{14}H_{17}O_2$
213	18	213,1278	$C_{15}H_{17}O$
212	12	212,1210	$C_{15}H_{16}O$
201	16	201,1289	$C_{14}H_{17}O$
		201,1116	$C_{10}H_{17}O_4$
199	7	199,1131	$C_{14}H_{15}O$
185	15	185,1338	$C_{14}H_{17}$
183	32	183,1179	$C_{14}H_{15}$
		183,0658	$C_9H_{11}O_4$
182	19	182,0587	$C_9H_{10}O_4$
137	82	137,0608	$C_8H_9O_2$

2.3. Funktionelle Gruppen

Das UV.-Spektrum von Roridin H (1) (vgl. Fig. 2) ist durch drei intensive Absorptionsmaxima bei 195 nm, 224 nm und 260 nm charakterisiert. Das IR.-Spektrum in KBr (vgl. Fig. 4) zeigt eine breite Carbonyl-Streckschwingung bei 1710 cm^{-1} und zwei C=C-Banden bei 1656 und 1603 cm^{-1}. Die Banden des kurzwelligen und des langwelligen Maximums des UV.-Spektrums und die Banden des IR.-Spektrums deuten auf das gleiche chromophore System wie in den anderen bisher beschriebenen Verrucarinen und Roridinen hin, nämlich einer α,β-γ-δ-ungesättigten Estergruppierung im "Muconsäure-Teil". Das zusätzliche Maximum bei 224 nm wurde bisher erst bei Verrucarin J und Roridin E beobachtet und deutet auf eine weitere zusätzliche α,β-ungesättigte Estergruppierung im "Verrucarinsäure-Teil" hin [7] [10]. Die Carbonylbande ist in KBr nicht wie in Verrucarin A [5], Roridin A [8] und Roridin D [9], wo neben der ungesättigten eine gesättigte Estergruppierung vorhanden ist, zu einem Dublett aufgespalten, was auf die Abwesenheit einer gesättigten Estergruppierung deutet.

Es bot sich nun die Gelegenheit, ein 220 MHz-NMR.-Spektrum von Roridin H aufnehmen zu lassen [9]. In diesem konnten die einzelnen Protonen sehr gut zugeordnet werden (vgl. Tab. 2 und Fig. 6). Das Spektrum lässt vier Methylgruppen erkennen, nämlich eine tertiäre als Singulett bei 0,85 ppm, die C-14 im Verrucarolteil entspricht, eine sekundäre als Dublett bei 1,32 ppm mit J = 6 Hz (C-14') und zwei an olefinischen Doppelbindungen haftende Methylgruppen, die als Singuletts bei 1,69 ppm und 2,27 ppm auftreten. Der erste der beiden Werte entspricht der C-16-Methylgruppe im Verrucarol-Teil. Durch Vergleich mit dem NMR.-Spektrum von Verrucarin J [7] konnte gezeigt werden, dass der zweite Wert der Methylgruppe entspricht, die an der Doppelbindung im "Verrucarinsäure-Teil", d.h. an C-3' sitzt [10].

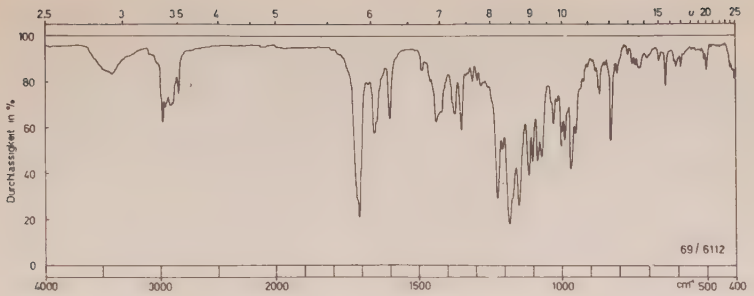


Fig.4: IR.-Spektrum von Roridin H (1)fest in KBr [7]

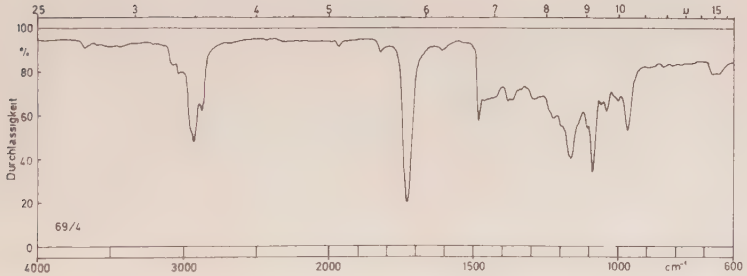


Fig. 5: IR.-Spektrum von Octahydrororidin H (2) in Methylenchlorid [8]

---

7) Aufgenommen mit einem PERKIN - ELMER - Gitterspektrophotometer, Mod. 125, im Institut (K. Aegerter)

8) Aufgenommen mit einem BECKMANN IR 8 Spektrophotometer

Im Bereich zwischen 5,42 ppm und 7,68 ppm sind sechs Vinylprotonen zu finden, die folgenden C-Atomen zugeordnet werden können: ein Dublett bei 5,42 ppm mit J = 4 Hz an C-10 im Verrucarol-Teil, ein Singulett bei 5,67 ppm an C-2' im "Verrucarinsäure-Teil", ein Dublett bei 5,79 ppm mit J = 11 Hz an C-10', ein Triplett bei 6,55 ppm mit J = 11 Hz an C-9', ein doppeltes Dublett bei 7,68 ppm mit J = 15,5 und 11 Hz an C-8' und zum Schluss ein Multiplett bei 5,9 ppm an C-7', das aber von anderen Signalen überlagert wird. Die letzten vier Signale gehören zum "Muconsäure-Teil". Sie zeigen die gleichen chemischen Verschiebungen und Spin-Spin-Kopplungen (vgl.Tab. 2 und Fig. 6), wie sie bei Roridin A und Roridin D vorliegen. Die beiden zur Estergruppe konjugierten Doppelbindungen sollten demnach die gleiche cis,trans-Geometrie besitzen, wie sie in den bisher gefundenen Verrucarinen und Roridinen vorliegt. Durch Entkopplungsversuche [24] im 100 MHz-Spektrum von Roridin H [11] liess sich die Kopplung der Protonen von C-10' mit C-9', von C-9' mit C-8' und von C-8' mit C-7' bestätigen. Eine weitere Kopplung des C-7'-Protons konnte hier wegen der vielen sich überlagernden Signale nicht gefunden werden. Doch sei auf später folgende Entkopplungsversuche im NMR.-Spektrum des Säureteils verwiesen (s. Kapitel 3.2.2.).

---

9) Wir danken Herrn Dr.Fritz, J. R. Geigy A.G., Basel, für die Aufnahme dieses Spektrums.

10) Im 60 MHz.-Spektrum ist das Singulett dieser Methylgruppe zu einem Dublett mit der Kopplungskonstante J = 1,5 Hz aufgespalten (Fernkopplung (long-range-Kopplung) mit dem Vinylproton an C-2').

11) Wir danken Herrn Dr. P. Niklaus, Sandoz A.G., Basel, für die Durchführung dieser Versuche.

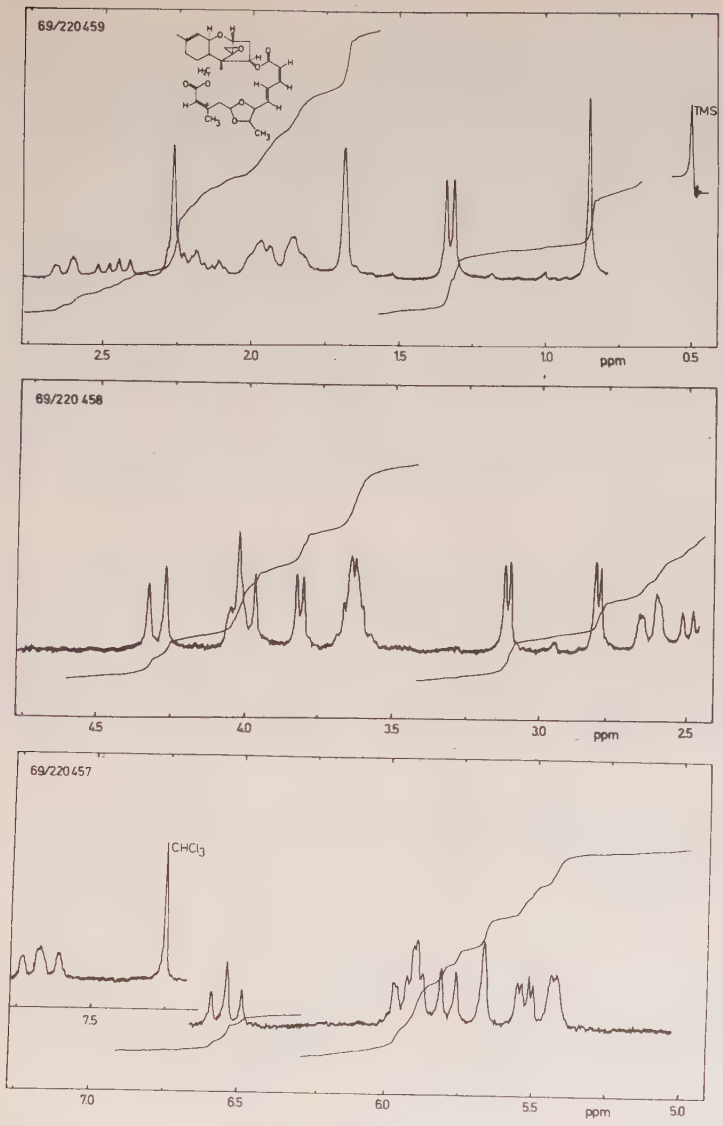


Fig. 6: 220 MHz NMR.-Spektrum von Roridin H (1) in Deuterochloroform [13]

13) Aufgenommen von Herrn Dr. H. Fritz auf einem VARIAN HR - SC - 220 - Spektograph am Institut für Makromolekulare Chemie, Freiburg i. Br., Vorsteher Herr Prof. H. J. Cantow.

Auffallend im NMR.-Spektrum ist ein doppeltes Dublett mit J = 3,5 und 8 Hz bei 5,58 ppm, das nach Integration einem Proton entspricht. Später zeigte sich, dass dieses Signal vom H-Atom an C-5' herrührt. Die komplexe Signalgruppe bei 3,64 ppm, die zwei Protonen entspricht, dürfte einerseits das Proton an C-11 im Verrucarolteil enthalten, während das zweite Proton hier noch nicht eindeutig zugeordnet werden konnte. Sein Auftreten bei tiefem Feld lässt aber eine benachbarte Sauerstoffunktion vermuten. In einem Doppelresonanzversuch konnte gezeigt werden, dass dieses Proton mit der sekundären Methylgruppe bei 1,32 ppm koppeln muss; denn beim Bestrahlen an der Stelle der Methylgruppe verändert sich die Signalgruppe bei 3,64 ppm.

Ebenfalls noch nicht eindeutig zuordnen liess sich ein Proton, dessen Signal bei 4,03 ppm erschien, das aber vom rechten Teil des AB-Systems der beiden C-15-Protonen überdeckt wurde. Immerhin lässt auch seine Lage bei tiefem Feld eine benachbarte Sauerstoffunktion vermuten. Eine eindeutige Zuordnung wird später erfolgen (s. Kapitel 3.2.2.)

Die Mikrohydrierung [13] von Roridin H (1) in PtO_2 und in Eisessig ergab eine Wasserstoffaufnahme von 4 Aequivalenten. Die Hydrierung im präparativen Massstab lieferte Octahydrororidin H (2), das bisher nicht kristallisierte. Octahydrororidin H (2) zeigt im UV.-Spektrum keine selektive Absorption mehr. Im IR.-Spektrum (vgl. Fig. 5) hat sich die Carbonylbande von 1710 cm^{-1} auf 1725 cm^{-1} verschoben. Das entspricht der Lage einer gesättigten Estergruppe. Die C=C-Schwingungen sind verschwunden.

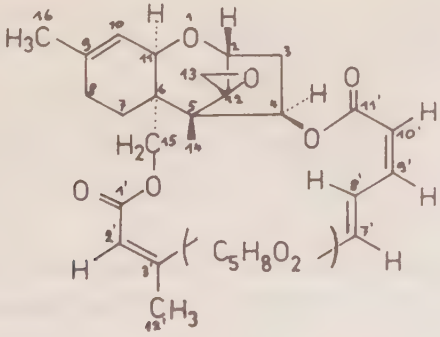
---

13) Durchgeführt im analytischen Laboratorium unseres Instituts (E. Thommen).

Im 60 MHz NMR.-Spektrum von Octahydrororidin H (vgl. Fig. 7) sind die Signale aller sechs Vinylprotonen verschwunden. An Stelle des doppelten Dubletts des C-5'-Protons bei 5,58 ppm ist nun bei 5,06 ppm ein Triplett mit der Kopplungskonstante von J = 4 Hz zu finden. Das Auftreten dieses Signals bei so tiefem Feld deutet einerseits auf die Nachbarschaft von mindestens einem Sauerstoffatom, die Form des Signals andererseits auf eine benachbarte Methylengruppe (C-4') hin. An Stelle der beiden olefinischen Methylgruppen, die im Spektrum von Roridin H als Singuletts bei 1,69 ppm und 2,27 ppm erschienen, sind nun bei höherem Feld zwei Dubletts von sekundären Methylgruppen bei 0,93 ppm mit J = 4 Hz und 1,12 ppm mit J = 4 Hz getreten. Sie entsprechen C-16 und C-12'.

Ein hochauflösendes Massenspektrum von Octahydrororidin H (2) [4] zeigte das Molekel-Ion bei m/e 520,302786 ± 0,011. Daraus ergibt sich die Bruttoformel $C_{29}H_{44}O_8$. Diese stimmt auch gut mit dem Ergebnis der Elementaranalyse überein. Auffallend im Massenspektrum ist eine starke (M-1)-Spitze, die im Massenspektrum von Roridin H fehlt. Die Erklärung erfolgt später (vgl. Kap. 3.3.2.).

Auf Grund der bisherigen spektroskopischen Daten lässt sich für Roridin H (1) folgende Teilstruktur aufstellen:



Im unbekannten Teil ($C_5H_8O_2$) muss sich noch eine $\geq CH-CH_3$-Gruppierung befinden.

2.4. Hydrolytische Spaltungen

Weiteren Aufschluss über die Struktur von Roridin H (1) ergab die basenkatalysierte Hydrolyse. Dabei erwies sich Roridin H (1) als schwerer spaltbar als z. B. Verrucarin A und Verrucarin B und auch als das relativ schwer spaltbare Verrucarin J. Nach 140-stündigem Stehen in 1,4 $\underline{\underline{N}}$ Na_2CO_3-Lösung in Methanol-Wasser-(1:1) bei 22° war praktisch keine Spaltung eingetreten. Auch in 0,085$\underline{\underline{N}}$ KOH-Lösung in Methanol (24 Std. bei 22°) liess sich 1 kaum merklich spalten. In 0,25$\underline{\underline{N}}$ KOH-Lösung in Methanol war die Spaltung erst nach ca. 90 Stunden, in 1$\underline{\underline{N}}$ KOH-Lösung in Methanol nach ca. 9 Stunden und in 2$\underline{\underline{N}}$ KOH-Lösung in Methanol nach ca. 5 Stunden beendet. Es konnten jeweilen nur zwei Bruchstücke isoliert werden, nämlich Verrucarol (8) aus den neutralen Anteilen und eine unbekannte Dicarbonsäure, die Myrothecinsäure (3) genannt wird, aus den sauren Anteilen.

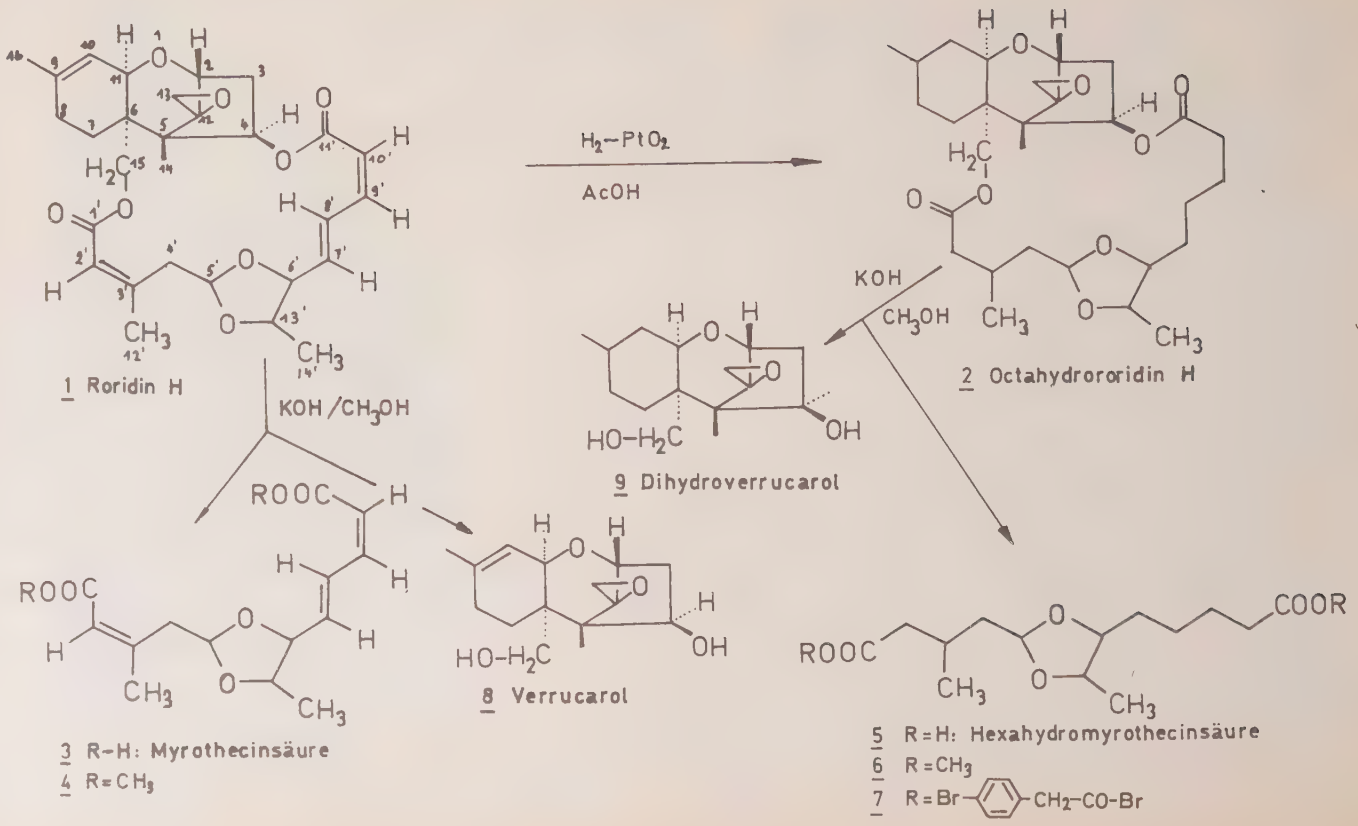
Wesentlich leichter liess sich Octahydrororidin H (2) spalten. Mit 0,5$\underline{\underline{N}}$ KOH-Lösung in Methanol war die Hydrolyse bei 22° nach 14 Std. beendet. Als Spaltprodukte resultierten hier: Dihydroverrucarol (9) und Hexahydromyrothecinsäure (5). Die hydrolytischen Spaltungen lassen sich folgendermassen formulieren:

$$\underset{(C_{29}H_{36}O_8)}{\text{Roridin H}} \xrightarrow{2H_2O} \underset{(C_{15}H_{22}O_4)}{\text{Verrucarol}} + \underset{(C_{14}H_{18}O_6)}{\text{Myrothecinsäure}}$$

$$\underset{(C_{29}H_{44}O_8)}{\text{Octahydrororidin H}} \xrightarrow{2H_2O} \underset{(C_{15}H_{24}O_4)}{\text{Dihydro-verrucarol}} + \underset{(C_{14}H_{24}O_6)}{\text{Hexahydro-myrothecinsäure}}$$

Die Isolierung, Charakterisierung und Konstitutionsaufklärung der Spaltprodukte soll nun im folgenden beschrieben werden.

Formelschema 5: Hydrolyse von Roridin H (1)



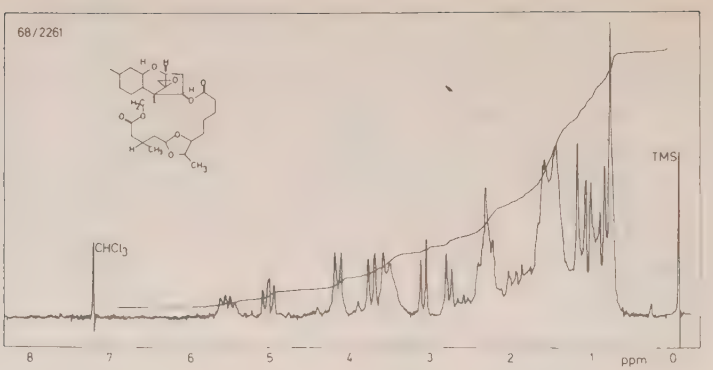


Fig. 7: NMR.-Spektrum von Octahydrororidin H (2) in Deuterochloroform [14]

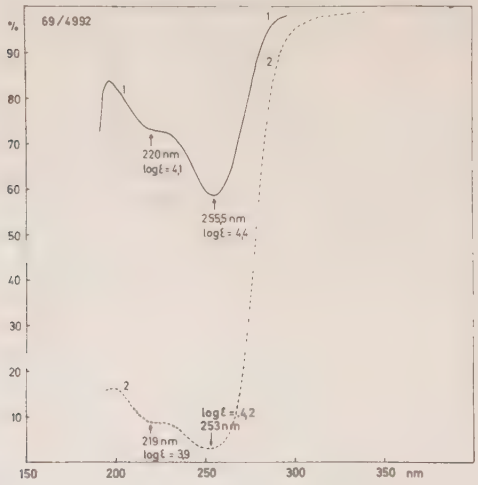


Fig. 8: UV.-Absorptionsspektren in Aethanol [5]

Kurve 1: Myrothecinsäure-dimethylester (4) (nach Hydrolyse, Veresterung und Säulenchromatographie)

Kurve 2: Unbekannte Substanz, die bei der Hydrolyse von Roridin H nach Veresterung und Säulenchromatographie erhalten wurde.

14) Aufgenommen mit einem VARIAN-Spektrometer A-60 (60 MHz) im Spektrallabor des Instituts (K. Aegerter)

3. Isolierung, Charakterisierung und Konstitution der Hydrolysenprodukte von Roridin H

3.1. Verrucarol (8) und Dihydroverrucarol (9)

Verrucarol (8) wurde der alkalisch-wässerigen Lösung der Hydrolyse von Roridin H (1) mit Methylenchlorid entzogen. Aus diesen Auszügen wurde es in farblosen Nadeln vom Smp. 157 - 158° und $[\alpha]_D^{23} = -38,6°$ (c = 1,046 in Chloroform) erhalten. Verrucarol (8) ist ein Sesquiterpenalkohol, der erstmals bei der Hydrolyse von Verrucarin A gefunden wurde [5]. Seine Konstitution ist von Gutzwiller et al. [11] aufgeklärt worden. Das Präparat war nach Mischsmp., Dünnschichtchromatogramm, IR.-Spektrum und NMR.-Spektrum mit authentischem 8 identisch.

In gleicher Weise wurde bei der Hydrolyse von Octahydrororidin H (2) Dihydroverrucarol (9) vom Smp. 148 - 152° und $[\alpha]_D^{23} = -8°$ (c = 1,033 in Chloroform) erhalten. Es war nach den gleichen Kriterien mit authent. 9 identisch.

3.2. Myrothecinsäure

3.2.1. Isolierung

Die wässerige Hydrolysenlösung von Roridin H (1) wurde nach der obigen Extraktion mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Das resultierende Rohprodukt zeigte im Dünnschichtchromatogramm mehrere Flecke, worunter hauptsächlich die Myrothecinsäure (3). Diese erwies sich als zersetzlich. Sie konnte aus dem Gemisch trotz mehrmaliger präparativer Dickschichtchromatographie auf Kieselgelplatten nicht rein erhalten werden. Die Strukturformel von Myrothecinsäure (3) wurde darum in folgender Weise ermittelt:

Das die sauren Anteile der Hydrolyse enthaltende Gemisch wurde sofort nach der Isolierung mit Diazomethan bei 0° verestert [15] und an einer Kieselgelsäule oder auf Kieselgel-Dickschichtplatten chromatographiert. Der Dimethylester (4) der Myrothecinsäure (3) wurde dabei als Hauptprodukt isoliert nebst einer zweiten Substanz, die weiter unten beschrieben wird (s. Kap. 3.2.2.).

3.2.2. Konstitution des Myrothecinsäuredimethylesters (4)

Der durch Säulenchromatographie gewonnene Dimethylester (4) der Myrothecinsäure (3) ist ein schwach gelb gefärbtes Oel. Er ist weniger empfindlich als die freie Säure. Im UV.-Spektrum in Äthanol (vgl. Fig. 8) zeigen sich zwei intensive Absorptionsmaxima bei 220 nm (log ε = 4,13) und bei 255,5 nm (log ε = 4,36). Diese Maxima entsprechen der α,β-ungesättigten und der α,β,γ,δ-ungesättigten Estergruppierung im "Verrucarinsäure-Teil" und im "Muconsäure-Teil". Die beiden starken C=C-Banden bei 1637 cm^{-1} und 1598 cm^{-1} und die Bande der C=O-Streckschwingung bei 1710 cm^{-1} im IR.-Spektrum (vgl. Fig. 9) lassen sich damit sehr gut vereinbaren. Es sind also in Roridin H die gleichen chromophoren Gruppen wie in Verrucarin J [7] und Roridin E [10] vorhanden. (Die Stereochemie der Chromophoren wird weiter unten diskutiert).

Der Myrothecinsäure-dimethylester (4) war zwar nach Dünnschichtchromatogramm in verschiedenen Systemen einheitlich, erwies sich aber im Gaschromatogramm (vgl. Fig. 12) als ein Gemisch zweier Substanzen. Eine Erklärung dafür wird die nun folgende Interpretation des NMR.-Spektrums geben.

Tieferen Einblick in die Struktur und die komplizierten Kopplungsverhältnisse der Myrothecinsäure (3) gewährte das NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 10) und vor allem die Methode der Spin-Spin-Entkopplung [24]. Im NMR.-Spektrum erscheint die an

15) Diazomethan greift bei Zimmertemperatur die konjugierten Doppelbindungen an.

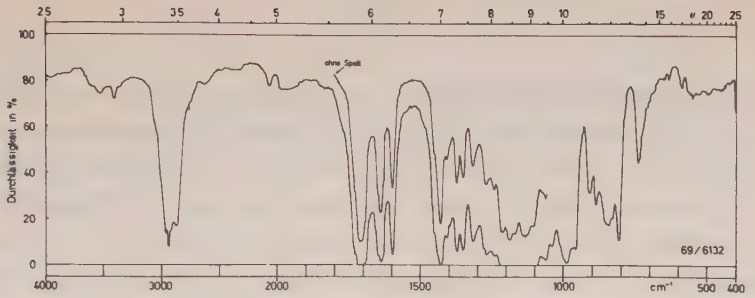


Fig. 9: IR.-Spektrum von Myrothecinsäure-dimethylester (4) in Methylenchlorid [8]

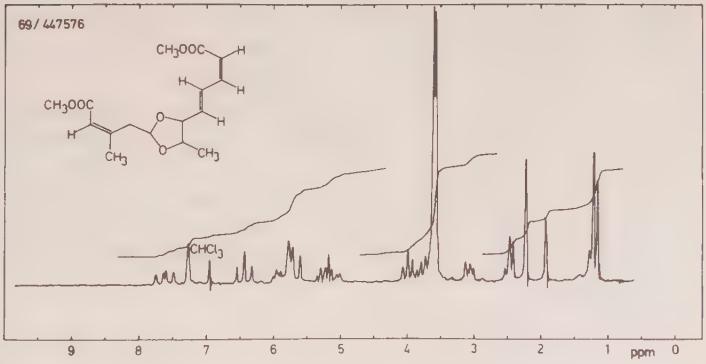
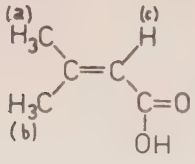


Fig. 10: 100 MHz NMR.-Spektrum von Myrothecinsäure-dimethylester (4) in Deuterochloroform-Deuterobenzol-(3:1) [16]

---

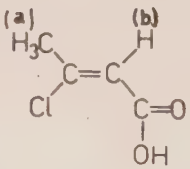
16) Aufgenommen mit einem Varian HA-100 D-Spektrometer der Firma Sandoz A.G., Basel (Herr Dr. P. Niklaus).

einer Doppelbindung haftende Methylgruppe C-12' nicht wie in Roridin H als ein einziges Dublett bei 2,27 ppm, sondern es sind zwei Dubletts bei 1,98 ppm und 2,25 ppm mit den gleichen Kopplungskonstanten J = 1,5 Hz (Fernkopplung) vorhanden. Das entspricht einer Differenz der beiden δ-Werte von 0,27 ppm. Ein Vergleich der beiden δ-Werte dieser Methylgruppendubletts mit denjenigen im NMR.-Spektrum von β,β-Dimethyl-acrylsäure [25] ergibt für die Methylgruppe bei einer trans-Konfiguration einen Wert von 1,93 ppm und bei einer cis-Konfiguration einen solchen von 2,18 ppm. Das ergibt für die beiden Methylgruppen wieder eine Differenz der Feldwerte von 0,25 ppm.



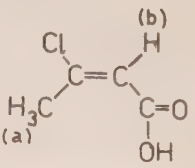
β,β-Dimethyl-acrylsäure

(a) 1,93 ppm d(1,5)
(b) 2,18 ppm d(1,5)
(c) 5,72 ppm m.



3-Chloro-croton-säure

(a) 2,30 ppm d(1,5)
(b) 6,07 ppm m.

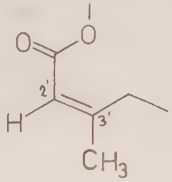


3-Chloro-iso-crotonsäure

(a) 2,58 ppm d(1,5)
(b) 6,10 ppm m.

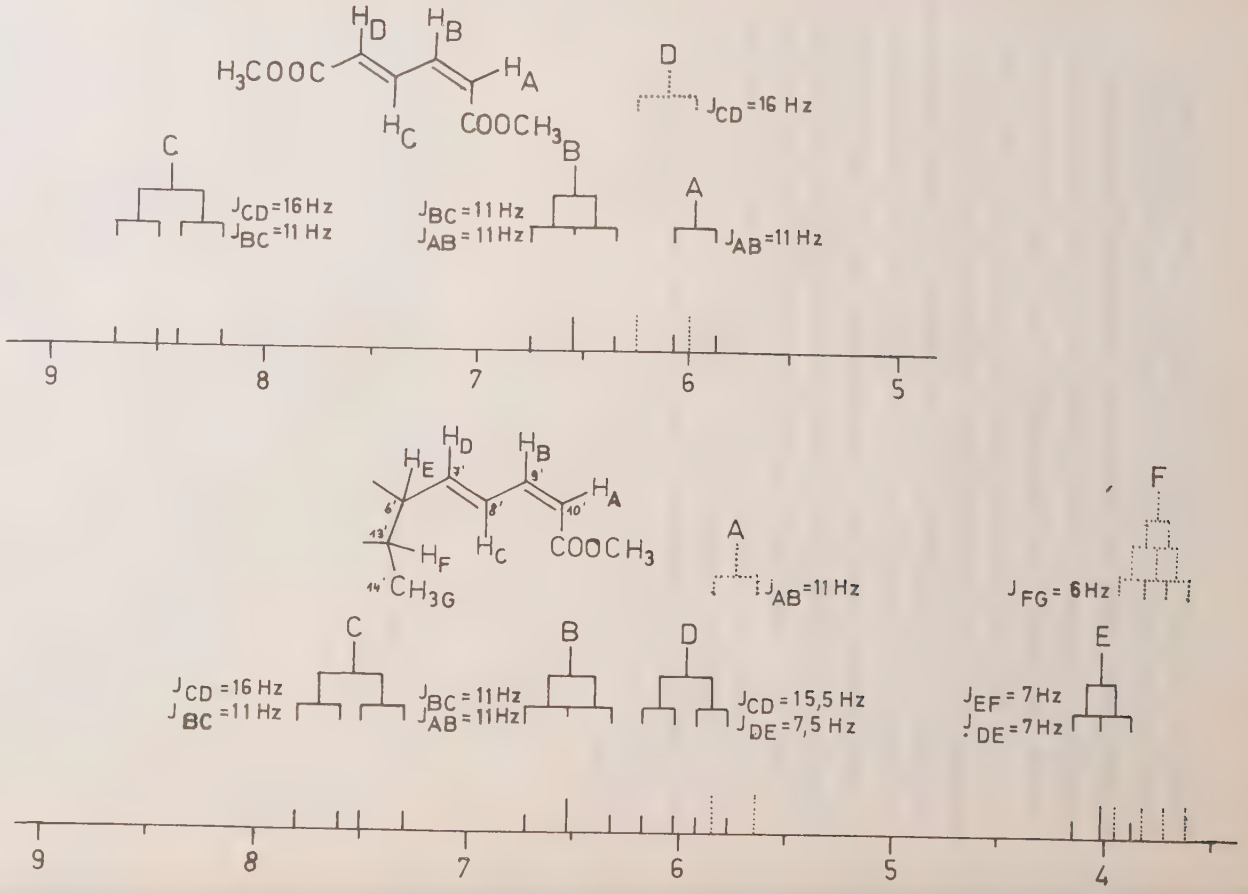
Das Vinylproton an C-2' hingegen bildet nur ein unscharfes Signal bei 5,75 ppm. Die Unterschiede der δ-Werte eines zur Carboxylgruppe α-ständigen Vinylprotons bei cis,trans-Isomerie betragen hingegen nur 0,03 ppm. Dies zeigt ein Vergleich der Daten der beiden NMR.-Spektren von 3-Chlorocrotonsäure und 3-Chloroiso-crotonsäure [26], wo die Werte der zur Säuregruppe α-ständigen Protonen bei 6,07 ppm resp. 6,10 ppm ge-

funden werden. Die Differenz der beiden δ-Werte der cis- und trans-Methylgruppe beträgt hier übrigens wiederum 0,28 ppm. Das würde das unscharfe Signal des C-2'-Vinylprotons bei 5,75 ppm erklären. Aus diesen Tatsachen folgt, dass es sich hier um ein Gemisch von cis,trans-Isomeren,und zwar an der Doppelbindung zwischen C-2' und C-3', handeln muss. Diese Vermutung wird durch Doppelresonanzversuche im 100 MHz-Spektrum bestätigt [11]. Beim Einstrahlen an der Stelle des Vinylprotons C-2' bei 5,75 ppm verändern sich nämlich beide Dubletts bei 1,98 ppm und 2,25 ppm der Methylgruppe C-12' je zu einem Singulett. Umgekehrt verändert sich das unscharfe Signal des Vinylprotons zu einem scharfen Singulett, wenn bei 1,98 ppm und bei 2,25 ppm eingestrahlt wird. Da die C-12'-Methylgruppe im NMR.-Spektrum von Roridin H (1) bei 2,27 ppm auftritt, darf auf Grund dieser Tatsachen geschlossen werden, dass in Roridin H an Stelle der Doppelbindung C-2'-C-3' eine cis-Konfiguration vorliegt.



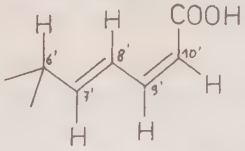
Die Signale der vier Vinylprotonen des "Muconsäure-Teils" werden bei folgenden Werten gefunden: ein Dublett bei 5,72 ppm mit J = 11 Hz (C-10'), ein Triplett bei 6,56 ppm mit J = 11 Hz (C-9') und ein doppeltes Dublett bei 7,60 ppm mit J = 11 Hz und 15,5 Hz (C-8'). Die Aufspaltungen und die Kopplungsverhältnisse dieser Protonen sind gleich wie bei den bisher gefundenen Verrucarinen und Roridinen und im cis,trans-Muconsäure-dimethylester [27]. Im cis,trans-Muconsäure-dimethylester jedoch erscheint das C-8' entsprechende Proton wegen des entschirmenden Effekts von zwei Estercarbonylgruppen bei wesentlich tieferem Feld (8,4 ppm) als hier. Hingegen erscheint es bei gleichem Feld und mit gleicher Aufspaltung wie bei Roridin A, Roridin D und Roridin E [8] [9] [10]. Das vierte Vinylproton,

Fig. 11: Schematische Darstellung der 4 Vinylprotonen des NMR.-Spektrums der Dimethylester von cis, trans-Muconsäure und Myrothecinsäure.



das C-7'-Proton hingegen verursacht ein komplexes Signal. Es bildet ein doppeltes Dublett bei 5,96 ppm mit J = 7,5 Hz und 15,5 Hz. Die grössere der beiden Kopplungskonstanten stimmt aber mit dem entsprechenden Wert von cis,trans-Muconsäure-dimethylester überein. Dies bedeutet, dass das benachbarte Kohlenstoffatom C-6' in Myrothecinsäure (3) nicht als Carbonylgruppe vorliegen kann, sondern ein weiteres Proton trägt. Dieses wurde auch als Triplett mit J = 7 Hz bei 4,10 ppm gefunden. Doppelresonanzversuche zeigten die Kopplung dieses Protons mit demjenigen an C-7', denn beim Einstrahlen bei 4,10 ppm entkoppelte das doppelte Dublett bei 5,96 ppm zu einem Dublett mit J = 15,5 Hz. Diese Kopplungskonstante entspricht der Kopplung der beiden Vinylprotonen C-7' - C-8'. Die Kopplungskonstante der Protonen C-7' - C-6' beträgt somit 7,5 Hz. Durch die Doppelresonanzversuche konnte auch eindeutig gezeigt werden, dass dieses Proton nicht mit der C-12'-Methylgruppe koppelt. Damit ist die Sequenz der C-Atome, wie sie im alten Strukturvorschlag für Roridin H beschrieben wurde, nicht möglich. Wegen der Lage des C-6'-Protons bei tiefem Feld wird vermutet, dass es einem Sauerstoffatom benachbart ist. Die Form seines Signals als Triplett lässt ein weiteres benachbartes H-Atom vermuten.

Mit diesen Ergebnissen ist folgende Sequenz gesichert:



Sie entspricht der Sequenz in Roridin A [8], Roridin D [9] und Roridin E [10].

Noch nicht genau abgeklärt war bis dahin die Lage der Methylgruppe C-14', die als Dublett bei 1,25 ppm mit J = 6 Hz auftritt und nach Entkopplungsversuchen im NMR.-Spektrum von Roridin H mit einem Proton koppelt, das bei 3,65 ppm liegt. Dieses Proton wurde hier bei ca. 3,78 ppm gefunden und C-13'

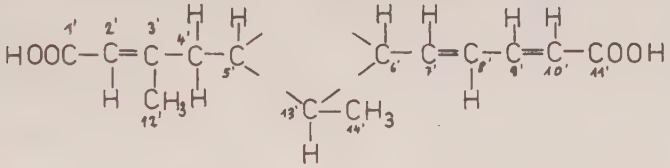
zugeordnet. Die Signale werden aber teilweise von denen der beiden Methylestergruppen überlagert. Durch Aufnahme des 100 MHz-Spektrums in einem Gemisch von Deuterochloroform und Deuterobenzol konnte gezeigt werden, dass dieses Signal annähernd die Form eines Quartetts besitzt [11]. Doch konnten die Kopplungskonstanten nicht eindeutig bestimmt werden. Das Erscheinen dieses Protons bei ähnlichem Feld wie das C-6'-Proton lässt ebenfalls ein Sauerstoffatom als Nachbam vermuten. Die Kopplung von C-13' mit der C-14'-Methylgruppe wurde wiederum in Doppelresonanzversuchen bestätigt: Das Proton C-13' (3,8 ppm) wurde bestrahlt, wobei sich das Dublett der Methylgruppe (1,25 ppm) zu einem Singulett veränderte. Bestrahlen der Methylgruppe C-14' veränderte das Quartett zu einem Dublett mit J = 6 Hz. Diese Kopplungskonstante entspricht der Kopplung des C-6'-Protons mit dem C-13'-Proton, obwohl diese Kopplung in den Doppelresonanzversuchen nicht bewiesen werden konnte, da die Lage ihrer Signale bei ähnlichem Feld Doppelresonanzversuche nicht erlaubte.

Es bleibt noch die Lage der H-Atome an C-5' und C-4' abzuklären. Das C-5'-Proton erscheint als eine komplexe Signalgruppe bei 5,25 ppm. Die Anzahl der Signale schien zuerst nicht im Einklang mit der Anzahl seiner Nachbarprotonen zu stehen. Anfänglich wurde vermutet, dass C-5' auf beiden Seiten benachbarte Protonen besitzt, denn beim Einstrahlen an Stelle des C-5'-Protons entkoppelte gleichzeitig ein bei 2,47 ppm erscheinendes Dublett mit J = 5 Hz sowie eine Signalgruppe bei ca. 3 ppm. Andererseits veränderte sich das komplexe Signal bei 5,25 ppm, wenn bei 2,47 ppm und bei ca. 3 ppm eingestrahlt wurde. Später zeigte es sich dann, dass das Dublett bei 2,47 ppm (J = 5 Hz) der C-4'-Methylengruppe entspricht, die mit dem Methinproton an C-5' koppelt. Die Signale bei ca. 3 ppm dürften wiederum durch die geometrische Isomerie der C-2' - C-3'-Doppelbindung hervorgerufen worden sein. Sie würden demnach der trans-Methylengruppe entsprechen. Die cis,trans-

Isomerie der Doppelbindung könnte ebenfalls eine kleine Verschiebung unddamit Ueberlagerung der Signale des C-5'-Protons verursachen. Das würde das unscharfe Signal bei 5,25 ppm erklären.

Zusammenfassung

Aus der Interpretation des NMR.-Spektrums und den Versuchen zur Spin-Spin-Entkopplung lassen sich für die Myrothecinsäure (3) folgende Strukturelemente mit Sicherheit ableiten:

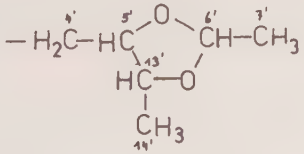


In diesen Teilstrukturen sind noch zwei Sauerstiffatome unterzubringen-

Da im IR.-Spektrum keine HO-Banden vorhanden sind, darf man annehmen, dass die Sauerstoffatome ätherartig gebunden sind. Nimmt man im weitern an, dass C-5' mit C-6' gleich verknüpft ist wie in Roridin A [8], Roridin D [9] und Roridin E [10], nämlich über eine Sauerstoffbrücke, so bieten sich für die Verknüpfung des restlichen Sauerstoffatoms noch zwei Möglichkeiten an:

1. Sauerstoffbrücke zwischen C-6' und C-13':

In diesem Fall hätte C-6' zwei Sauerstoffatome als Nachbarn. Es müsste bei tiefem Feld (ca. 5 - 6 ppm) erscheinen und gleichzeitig mit dem C-7'-Proton koppeln. Das C-6'-Signal erscheint aber in Wirklichkeit bei 4,1 ppm. Das Signal, das

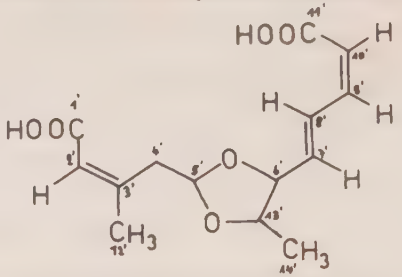


bei 5,2 ppm erscheint (C-5'), hätte in diesem Fall nur ein benachbartes Sauerstoffatom. Es müsste bei höherem Feld erscheinen (ca. 3 - 4 ppm).

2. Sauerstoffbrücke zwischen C-5' und C-13':

Diese Struktur steht im Einklang mit den gefundenen spektroskopischen Daten. C-5' erscheint wegen den beiden benachbarten Sauerstoffatomen bei tiefem Feld (5,2 ppm). Das C-6'-Proton hat nur ein benachbartes Sauerstoffatom. Es erscheint bei 4,1 ppm und koppelt mit dem C-7'-Proton. Das H-Atom an C-13' hat ebenfalls ein benachbartes Sauerstoffatom. Es erscheint bei ähnlichem Feld wie das C-6'-Proton und koppelt mit der C-14'-Methylgruppe.

Damit ergibt sich für die Myrothecinsäure die folgende Struktur:



Den endgültigen Beweis für diesen Strukturvorschlag werden ein hochauflösendes Massenspektrum und ein chemischer Abbau des Hexahydromyrothecinsäure-dimethylesters liefern (s. Kap. 3.3.2. und Kap. 4.2.).

Das Gemisch von cis,trans-Myrothecinsäure-dimethylester (4) liefert bei der katalytischen Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle in Äthanol einheitlichen Hexahydromyrothecinsäuredimethylester (6), der sich nach Gaschromatogramm (vgl. Fig. 12), Dünnschichtchromatogramm und IR.-Spektrum als identisch mit 6 erwies, das bei der Hydrolyse von Octahydro-

roridin H (2) erhalten wurde (s. Formelschema 5).

Die bei der chromatographischen Reinigung von Myrothecinsäure-dimethylester (4) zweite isolierte Substanz war nach Dünnschicht ebenfalls einheitlich. Sie zeigte im IR.-Spektrum ebenfalls die charakteristischen C=C-Banden bei 1652 und 1610 cm^{-1}. Die C=O-Schwingung hingegen war in ein Dublett bei 1722 und 1737 cm^{-1} aufgespalten. Im Gaschromatogramm jedoch erwies sich die Substanz als ein Gemisch von mindestens fünf Substanzen. Im NMR.-Spektrum dieses Gemisches waren zwar die charakteristischen Signale der fünf Vinylprotonen feststellbar. Es traten jedoch neue Signale auf, die nicht zugeordnet werden konnten. Das Gemisch wurde darum nicht mehr weiter untersucht. Es könnte sich bei diesem Gemisch um die cis,cis- oder trans, trans-Isomeren des "Muconsäure-Teils" handeln. Zieht man noch die schon vorhandene cis,trans-Isomerie der Doppelbindung C-2'-C-3' in Betracht, so ergäben sich daraus schon vier mögliche Isomeren. Geometrische Isomerie im "Muconsäure-Teil" wurde bei Verrucarin A wirklich beobachtet. Wird nämlich die Hydrolyse von Verrucarin A bei höherer Temperatur durchgeführt, so findet eine teilweise Isomerisierung der cis,trans-Muconsäure zur trans,trans-Muconsäure statt [5]. Es ist auch bekannt, dass cis,cis- oder cis,trans-Muconsäure beim Erwärmen oder beim Stehenlassen in Lösung am Licht oder beim Bestrahlen im UV.-Licht leicht in die thermodynamisch stabilste trans,trans-Form übergeht [28].

3.3. Hexahydro-myrothecinsäure (5)

3.3.1. Isolierung

Die bei der Hydrolyse von Octahydro- roridin ₁ H (2) nach der Abtrennung von Dihydroverrucarol (9) verbliebene wässerige Lösung wurde mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 angesäuert und mit Äther extrahiert. Der resultierende ölige Ätherextrakt enthielt zum grössten Teil die Hexahydromyrothecinsäure (5). Zur Reinigung der Säure erwies sich die präparative Trennung auf Kieselgel-Dickschichtplatten als geeignet. Sie lieferte reine Hexahydromyrothecinsäure (5) als farbloses Oel. $[\alpha]_D^{23} = -10,7 \pm 1°$ (in Chloroform). Die Säure 5 liess sich im Hochvakuum destillieren, wobei sie sich aber zum Teil zersetzte. Im Dünnschichtchromatogramm zeigte 5 in verschiedenen Systemen den gleichen Rf-Wert wie (2)-Methylpimelinsäure [14].

3.3.2. Konstitution

Auf Grund der Elementaranalyse des di-p-Bromphenacylesters 7 wird der Säure 5 die Bruttoformel $C_{14}H_{24}O_6$ zugeschrieben. Im IR.-Spektrum sind keine C=C-Banden vorhanden. Die C=O-Schwingung tritt als breite Bande bei 1705 cm^{-1} auf. Die breite Absorptionsbande zwischen 2800 und 3350 cm^{-1} lässt auf assoziierte HO-Gruppen schliessen. Im NMR.-Spektrum werden bei tiefem Feld zwei Säureprotonen gefunden. Eine genaue Interpretation des NMR.-Spektrums wird beim Dimethylester 6 der Säure erfolgen.

Für die weiteren Untersuchungen wurde die Säure mit Diazomethan in den Dimethylester 6 übergeführt und dieser an einer Kieselgelsäule chromatographiert. Der reine Dimethylester 6 wurde als farblose Flüssigkeit von $[\alpha]_D^{23} = -10,0° \pm 1°$ (in Chloroform) erhalten, die im Gaschromatogramm einheitlich war. Er war identisch mit dem durch katalytische Hydrierung von

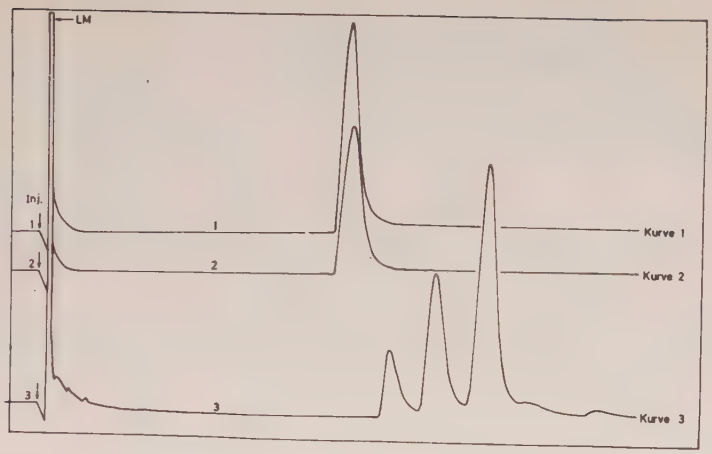


Fig. 12: Gaschromatogramm von Myrothecinsäure-dimethylester(4) und Hexahydomyrothecinsäure-dimethylester (6)[17]

Kurve 1: 6 aus Hydrolyse von Octahydrororidin H (2)
Kurve 2: 6 durch Hydrierung von 4
Kurve 3: Myrothecinsäure-dimethylester (4)aus Hydrolyse von Roridin H (1)
(Ofentemp.:195°; Injecttemp.: 225°; Trägergas: Helium)

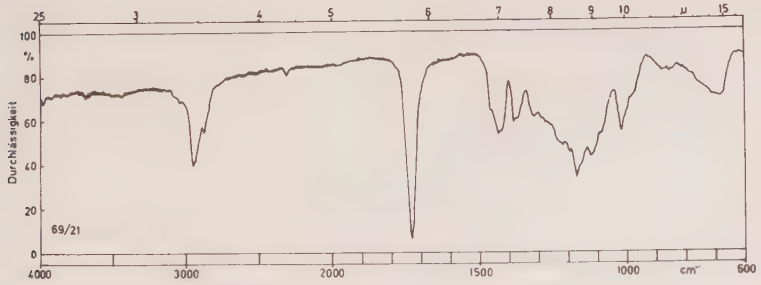


Fig. 13: IR.-Spektrum von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) in Methylenchlorid [8]

17) Aufgenommen mit einem F+M-Labor-Gaschromatographen, Modell 700, Säule: 10% SE-30 auf Chrom. W silan (2m / 2mm)

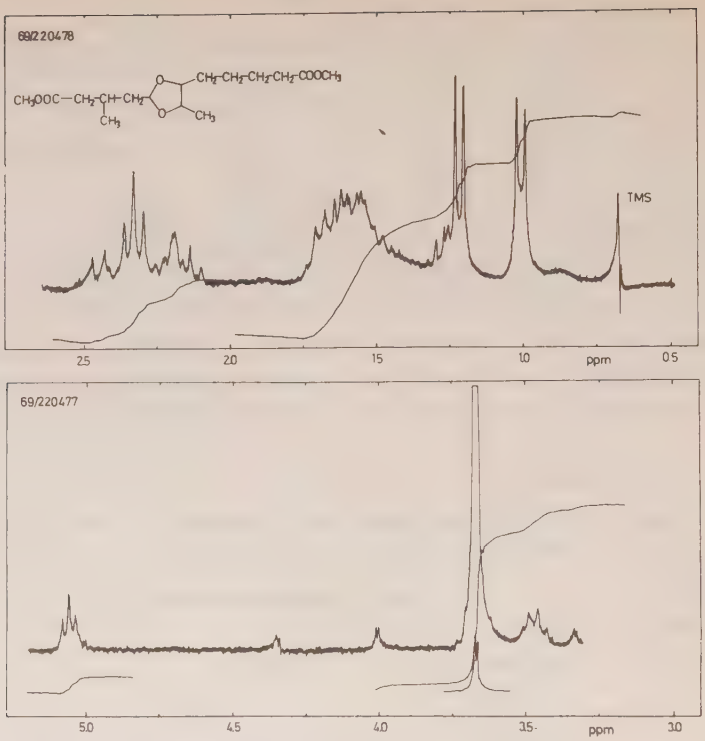


Fig. 14: 22C MHz-NMR.-Spektrum von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) in Deuterochloroform [13]

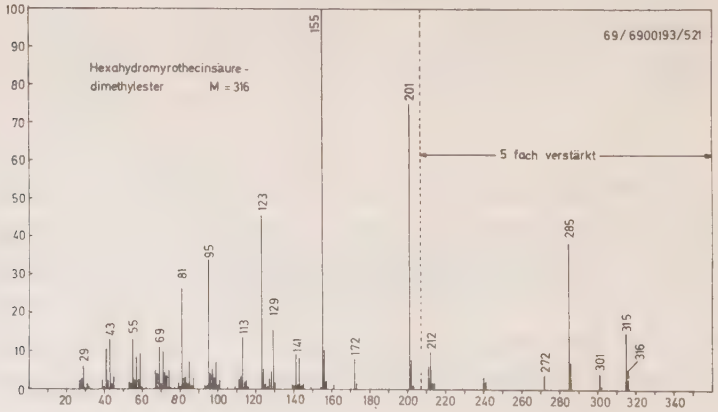


Fig. 15: Massenspektrum von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) [6]

Myrothecinsäure-dimethylester (4) erhaltenen Präparat.

Im IR.-Spektrum von 6 (vgl. Fig. 13) sind keine C=C-Banden vorhanden. Die C=O-Streckschwingung erscheint bei 1730 cm^{-1} . Sie entspricht der Lage einer gesättigten Estergruppierung.

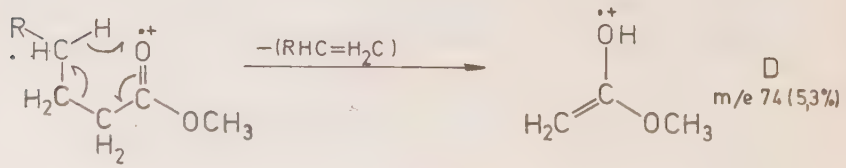
Im 220-MHZ-NMR.-Spektrum von 6 [3] (vgl. Tab. 2 und Fig. 14) sind alle Vinylprotonen verschwunden. An ihrer Stelle sollten 5 neue Methylengruppen auftreten. Drei davon erscheinen zwischen 1,4 ppm und 1,7 ppm, lassen sich aber nicht genau zuordnen, da sich die Signale überlagern. Hingegen finden sich die den beiden Carbonylgruppen benachbarten Methylengruppen C-2' und C-10' bei 2,32 ppm als Triplett mit J = 7 Hz resp. bei 2,15 ppm als Multiplett. Die Methylgruppe C-12', die in der ungesättigten Säure 3 bei 2,25 ppm auftritt, ist nach höherem Feld verschoben und nun als Dublett mit J = 6 Hz bei 1,01 ppm zu finden. Das dieser Methylgruppe benachbarte Methinproton an C-3' tritt bei 1,26 ppm als Quartett mit der Kopplungskonstante J = 6 Hz auf. Die Signale werden z.T. von denen der C-14'-Methylgruppe überdeckt, die als Dublett bei 1,21 ppm mit J = 6 Hz zu finden ist. Das Triplett mit J = 5 Hz bei 5,06 ppm entspricht dem H-Atom an C-5'. Die Kopplung mit den C-4'-Protonen ist nicht zu sehen, da diese durch das Fehlen der benachbarten Doppelbindung nach höherem Feld verschoben und nun im Bereiche von ca. 1,6 ppm nicht genau lokalisierbar sind. Die komplexe Signalgruppe bei 3,48 ppm, die ein Quartett mit der Kopplungskonstante J = 6 Hz sein könnte, dürfte dem H-Atom an C-13' entsprechen, während das Signal des benachbarten Protons an C-6' von den CH_3O-Signalen fast ganz zugedeckt wird. Die im NMR.-Spektrum von Myrothecinsäure-dimethylester (4) vorgenommenen Zuordnungen werden durch dieses Spektrum bestätigt.

3.3.3. Massenspektrum von Hexahydro-myrothecinsäure-dimethylester (6)

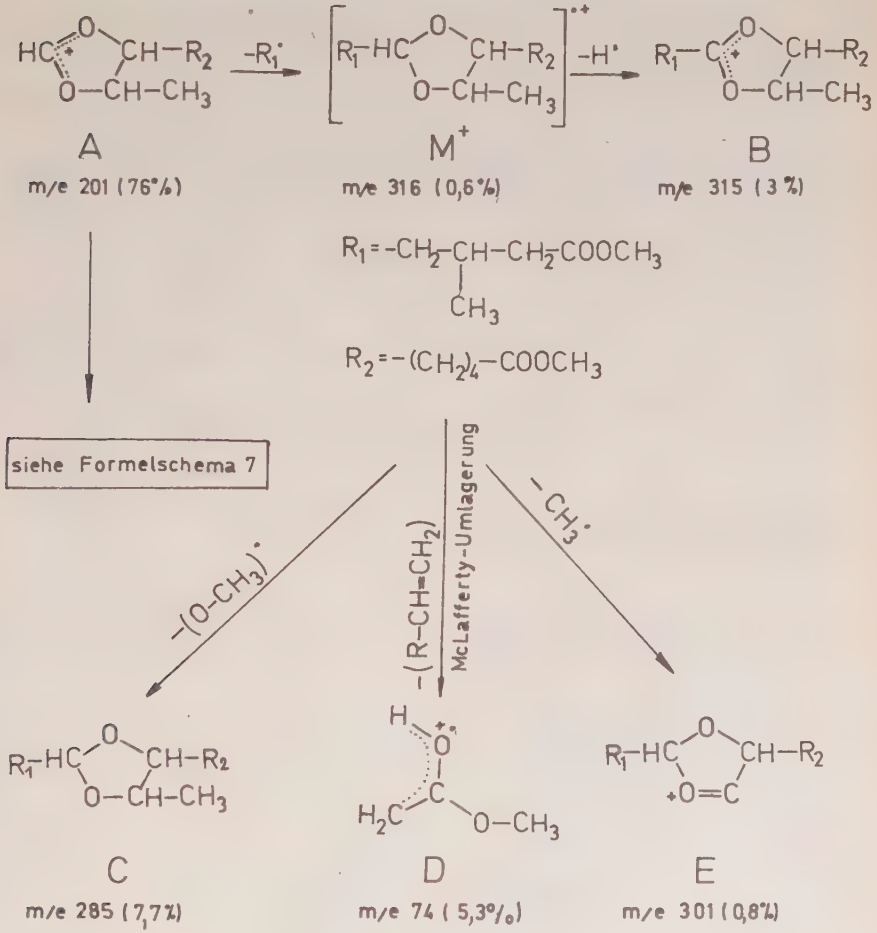
Einen entscheidenden Schritt zur Aufklärung der Konstitution der Myrothecinsäure lieferte ein hochauflösendes Massenspektrum von 6 [4]. Durch die Bestimmung der genauen Massen zahlreicher Bruchstücke gelang es, Zerfallsreaktionen zu formulieren, die die vorgeschlagene Acetalstruktur bestätigen.

Das Massenspektrum zeigt nur eine schwache Spitze für das Molekularion bei m/e 316,186135 ± 0,008 (relative Intensität 0,6 %). Als Bruttoformel kommt damit nur $C_{16}H_{28}O_6$ in Frage. Auffallend ist eine viel stärkere (M-1)-Spitze, die schon im Massenspektrum von Octahydrororidin H (2), aber nicht in dem von Roridin H (1) gefunden wurde. Sie dürfte der Abspaltung des C-5'-Protons entsprechen (Ion B). Für das Molekular-Ion lassen sich die folgenden Zerfallsreaktionen formulieren (Formelschema 6) (vgl. [29] [30]).

Das Molekular-Ion M^+ verliert in einer homolytischen Spaltung den Rest R_1 und geht in Bruchstück A über, das bei m/e 201 mit einer relativen Intensität von 76 % gefunden wurde. (Weiterer Zerfall von A siehe Formelschema 7). Die Abspaltung des C-5'-Protons wurde oben schon erwähnt. Durch die für Methylester charakteristische Abspaltung von $-OCH_3$ entweder aus der Methylestergruppe in R_1 oder in R_2 entsteht ein Ion C mit m/e 285 und der relativen Intensität 7,7 %. Bruchstück D mit m/e 74 und der relativen Intensität 5,3 % dürfte das Produkt einer β-Spaltung mit Transfer eines γ-H-Atoms sein (McLafferty-Umlagerung; vlg. [31]).



Formelschema 6: Zerfall von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6)

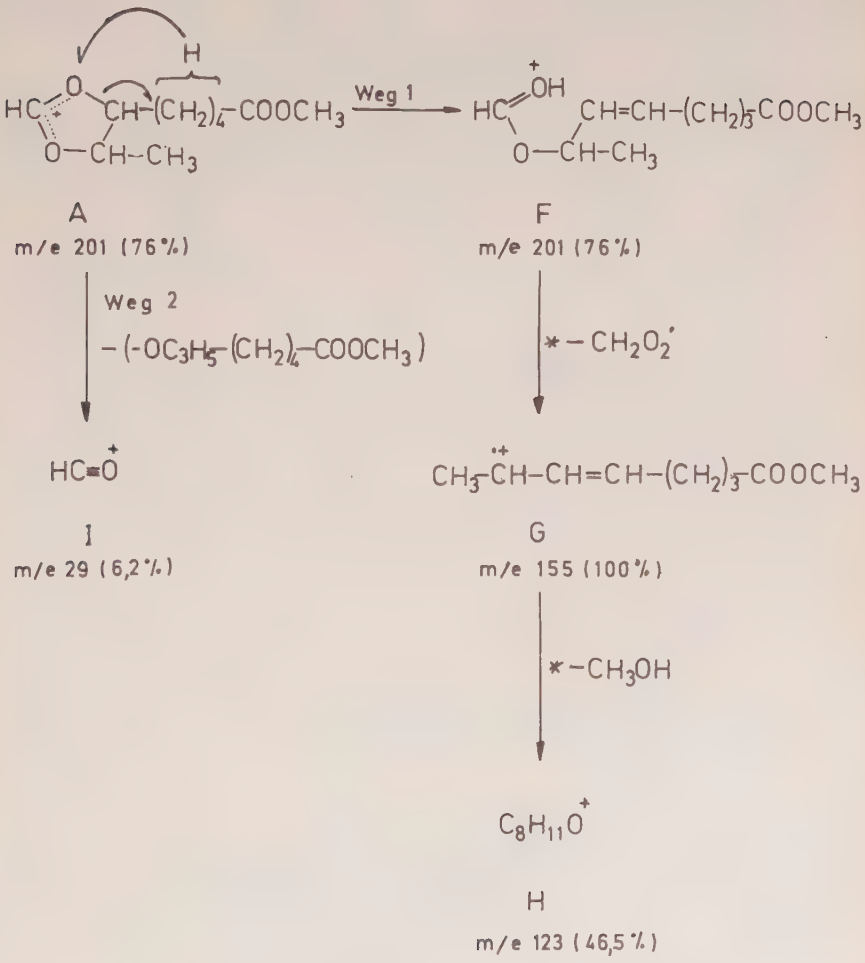


Die schwache Spitze bei m/e 301 (relative Intensität 0,8 %) dürfte dem Verlust der Methylgruppe C-14' entsprechen (Ion E).

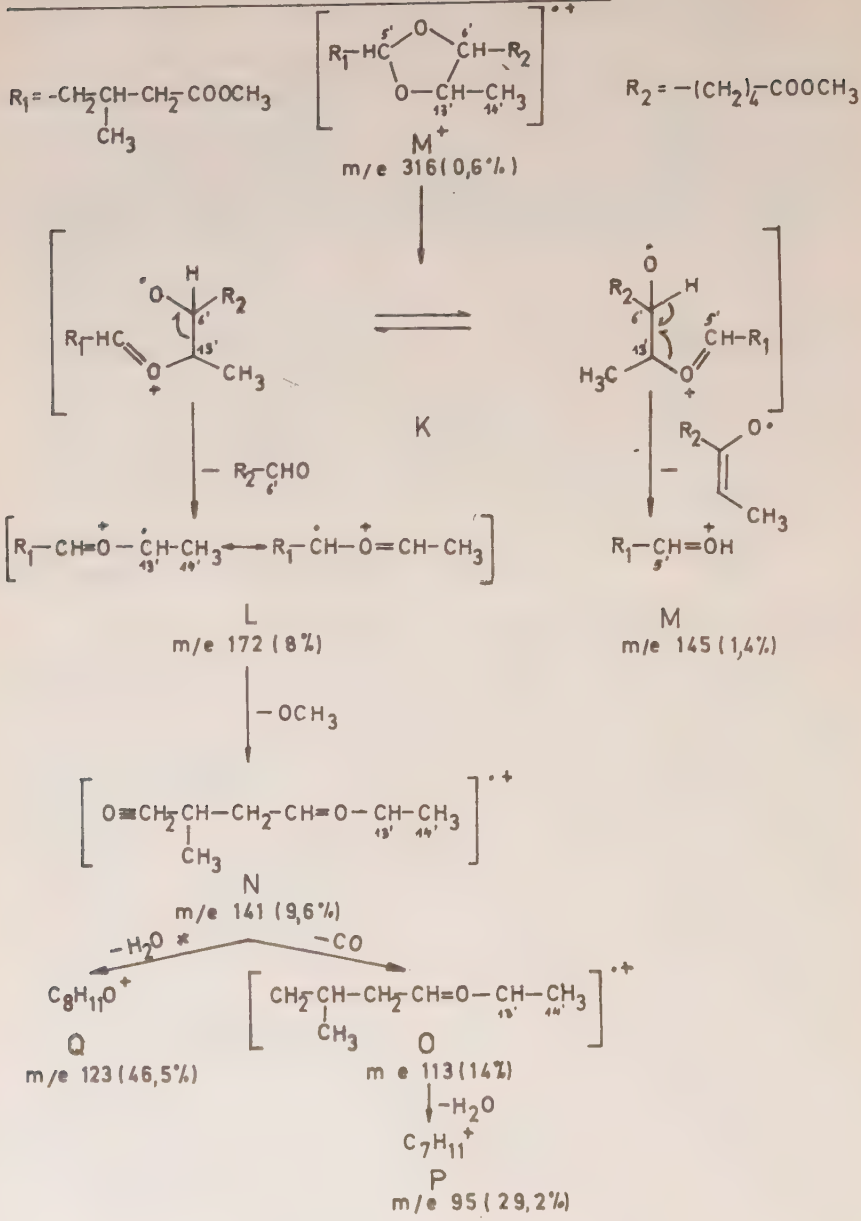
Beim Bruchstück A sind die folgenden Zerfallsreaktionen wahrscheinlich (Formelschema 7): Einerseits ergibt eine O-C-Spaltung von A verbunden mit einer H-Wanderung eines zum Sauerstoff β-ständigen H-Atoms das Oxonium-Ion F, welches immer noch die Masse 201 besitzt (Weg 1). Dieses spaltet in einem metastabilen Uebergang CH_2O_2 ab und geht in G über. Die entsprechende metastabile Spitze wurde bei m/e 119,6 und das Ion G bei m/e 155 gefunden. G bildet den sog. base peak. G verliert wiederum in einem metastabilen Uebergang CH_3OH. Das ergibt ein Fragment-Ion mit der Masse 123 und der relativen Intensität 46,5 % und ein Uebergangssignal bei m/e 97,7. Diese Abspaltung von Methanol aus geladenen Radikalen wird in den Spektren von Methylestern oft beobachtet [32]. Andererseits ergibt der Verlust von ($-OC_3H_5R_2$) aus A das Acylium-Ion J, das bei m/e 29 erscheint (relative Intensität 6 %) (Weg 2).

Weiss et al. [33] fanden eine Zerfallsreaktion für Äthylenacetale, die im folgenden in analoger Weise formuliert wird (Formelschema 8): Das Molekularion M^+ bildet durch eine C-O-Spaltung Ion K, das aus anschaulichen Gründen in zwei verschiedenen Konformeren formuliert wird. K kann nun entweder durch Spaltung der aktivierten C-6' - C-13'-Bindung mit nachfolgender Elimination von R_2-CHO in Ion L mit m/e 172 (relative Intensität 8,0 %) übergehen, oder es kann die schon oben formulierte, für Äther charakteristische C-O-Spaltung, verbunden mit einer β-H-Wanderung eintreten, wobei ein Fragment M mit der Masse 145 und der relativen Intensität 1,4 % entsteht. Fragment-Ion L ist durch Resonanz stabilisiert. Es kann durch den für Methylester typischen Verlust von Methanol [32] aus R_1 in das Acylion N übergehen, das eine Masse von 141 (relative Intensität 9,6 %) besitzt. N kann einerseits CO und anschliessend H_2O verlieren. Das ergibt die Ionen O und P mit den Massen 113 (relative Inten-

Formelschema 7: Zerfall von Fragment A



Formelschema 8: Zerfall des Molekularions M^+



sität 14 %) und 95 (relative Intensität 29,2 %). Andererseits kann N in einem metastabilen Zerfall, unter Verlust von H_2O, in ein Ion mit der Bruttoformel $C_8H_{11}O$ (m/e 123, relative Intensität 46,5 %) übergehen. Das dazugehörige Uebergangssignal liegt bei m/e 107,3.

Diese Zerfallsreaktionen stehen alle im Einklang mit der vorgeschlagenen Struktur für die Hexahydro-myrothecinsäure (5). Ein chemischer Beweis soll nun durch einen Abbau des Hexahydro-myrothecinsäure-dimethylesters (6) im folgenden Kapitel folgen.

4. Abbaureaktionen

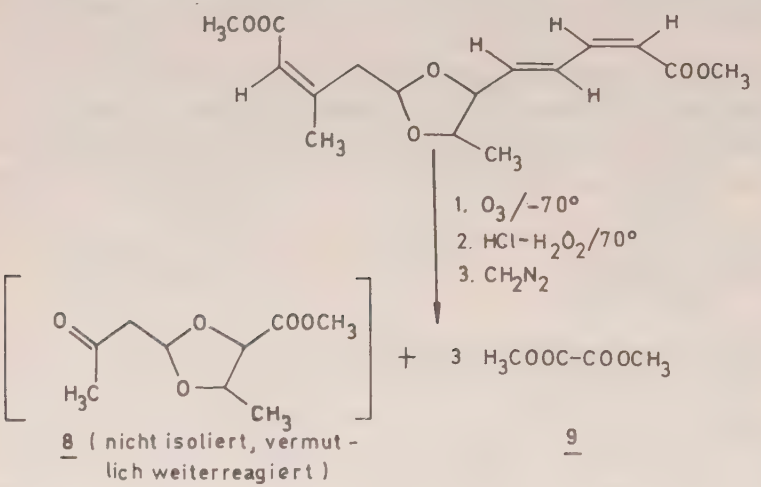
4.1. Ozonolyse von Myrothecinsäure-dimethylester (4)

Zum oxidativen Abbau wurde der Ester (4) bei -70° ozonisiert und das Ozonid mit H_2O_2 in wässeriger HCl auf 70° erhitzt [8]. Aus dem Reaktionsgemisch konnte nach Behandeln mit Diazomethan als Abbauprodukt nur Oxalsäure-dimethylester (9) isoliert werden, der nach Gaschromatogramm und nach IR.-Spektrum mit authentischem Material identisch war. Das andere Bruchstück (8) mit der Acetalgruppierung konnte nicht isoliert werden. Es hat unter diesen Bedingungen vermutlich weiter reagiert.

4.2. Abbau von Hexahydro-myrothecinsäure-dimethylester (6)

Der Abbau von 6 erfolgte nach dem in Formelschema 10 beschriebenen Weg: Acetalspaltung von 6 lässt zwei Bruchstücke erwarten, nämlich 3-Methyl-glutarsäurealdehyd-methylester (10) und 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11), kurz "Diol" genannt. Oxidation des Aldehyds 10 müsste 3-Methyl-glutarsäure (14) liefern. Der bei einer Spaltung des Diols 11 mit Perjodsäure entstehende Aldehyd 17 sollte nach Oxidation Adipinsäure (19) ergeben, während der gleichzeitig entstehende Acetaldehyd (18) als Dimedonderivat (21) identifiziert werden sollte.

Formelschema 9: Ozonolyse von Myrothecinsäure- dimethylester



8 (nicht isoliert, vermutlich weiterreagiert)

9

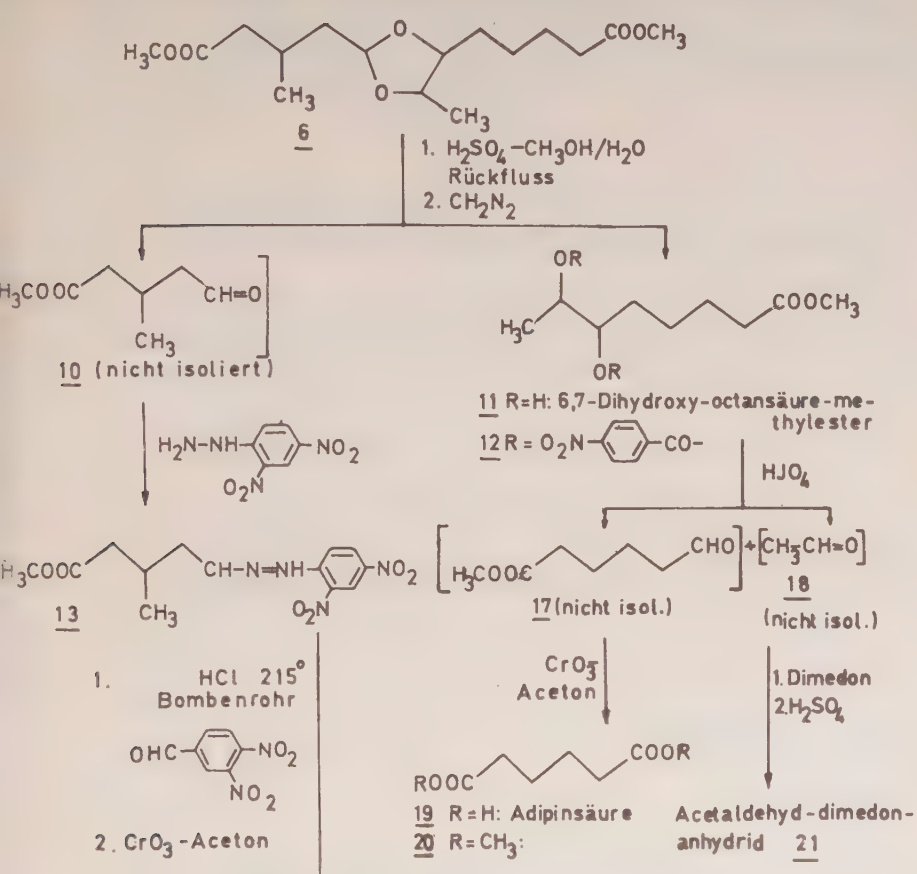
Im folgenden werden nun die einzelnen Reaktionen und die Identifikation der Bruchstücke beschrieben.

4.2.1. Acetalspaltung [18]

Der Dimethylester 6 erwies sich als sehr schwer spaltbar. Längeres Kochen von 6 in 3N HCl ergab, wie sich erst später herausstellte, nur sehr wenig Diol 11, nebst Ausgangsmaterial 6. Versuche, 6 mit Trifluoressigsäure zu spalten, verliefen ebenfalls erfolglos. Aus einer Lösung von 0,2N H_2SO_4 in Methanol-Wasser-(1:1) konnten nach viertägigem Kochen ebenfalls nur Spuren des Diols 11 isoliert werden. Der Aldehyd 10 konnte in keinem Fall isoliert werden. Er liess sich jedoch fassen, indem er direkt in ein Hydrazonderivat übergeführt und so dem Gleichgewicht entzogen wurde. Zu diesem Zweck wurde in eine Lösung des Acetals 6 in 0,2N H_2SO_4 in Methanol-Wasser-(1:1) ein kleiner Ueberschuss von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin gegeben. Nach 12-stündigem Kochen war im Dünnschichtchromatogramm kein Ausgangsmaterial mehr vorhanden. Das Gemisch der Spaltung wur-

18) Zur Methodik siehe [34]

Formelschema 10: Abbau von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6)



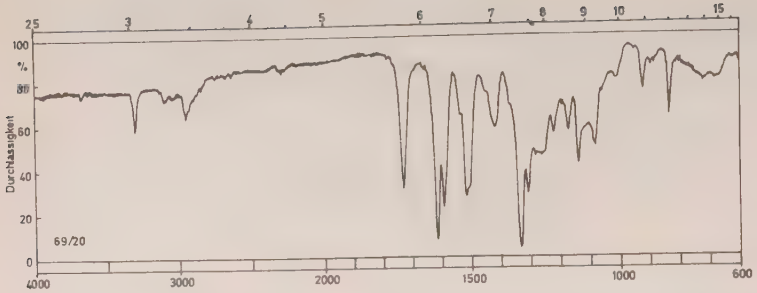


Fig. 16: IR.-Spektrum von 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13) in Mezhylenchlorid [8]

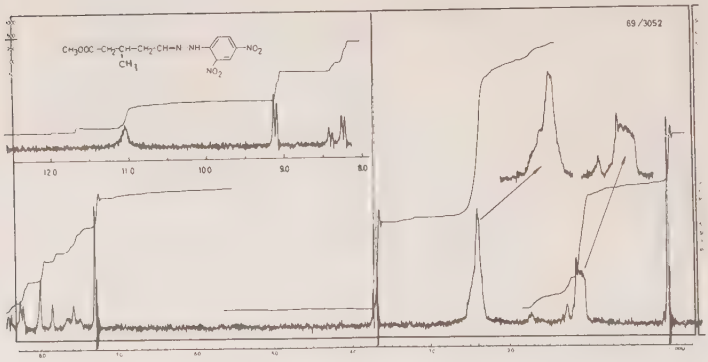


Fig. 17: NMR.-Spektrum von 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13) in Deutero - chloroform [14]

de an einer Kieselgelsäule chromatographiert. Dabei konnte in 93 % Ausbeute ein Präparat isoliert werden, das sich auf Grund der IR.-, NMR.- und Massenspektren (siehe Kap. 4.2.1.1.) als das Hydrazonderivat 13 des 3-Methyl-glutaraldehyds (10) erwies. Das Diol 11 konnte ebenfalls, und zwar in 75 % Ausbeute, erhalten werden.

4.2.1.1. Identifizierung von 3-Methyl-glutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13)

Das Hydrazon 13 kristallisiert aus Essigester-Pentan in rötlich gelben Kristallen vom Smp. 87 - 89,5 %. Die Elementaranalysen stimmten auf die Bruttoformel $C_{13}H_{16}N_4O_6$. Diese wurde im Massenspektrum bestätigt, denn dort trat das Molekularion bei m/e 324 auf (Weitere Interpretation siehe unten).

Im IR.-Spektrum (Methylenchlorid) (vgl. Fig. 16) zeigt das Hydrazon 13 bei 1730 cm^{-1} die C=O-Streckschwingung der gesättigten Methylestergruppe. Die Bande bei 3300 cm^{-1} wird der N-H-Valenzschwingung zugeordnet, während die zwei intensiven Banden bei 1515 cm^{-1} und 1333 cm^{-1} die asymmetrischen NO_2-Valenzschwingungen der beiden aromatischen Nitrogruppen sind.

Im NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 17) findet man bei ca. 1,2 ppm die Signale des Methinprotons an C-3', die aber durch die Signale der C-12'-Methylgruppe z. T. überdeckt werden. Das erwartete Quartett kann darum nicht eindeutig bestimmt werden. Die Signalgruppe bei 2,4 ppm, die nach Integration vier Protonen entspricht, wird den beiden C-2'- und C-4'-Methylengruppen zugeordnet. Die drei aromatischen Protonen erscheinen bei tiefem Feld, nämlich bei 7,92 ppm, 8,34 ppm und bei 9,1 ppm. Das H-Atom an C-5' ist durch die Nachbarschaft des N-Atoms nach tiefem Feld verschoben. Es bildet bei 7,58 ppm das erwartete Triplett mit der Kopplungskonstante J = 5 Hz. Das an den Stickstoff gebundene Proton schliesslich erscheint als breites Signal bei 11,2 ppm.

Im Massenspektrum des Hydrazons 13 (vgl. Fig. 18) findet sich das Molekularion bei m/e 324. Die Spitze bei m/e 289 ent-

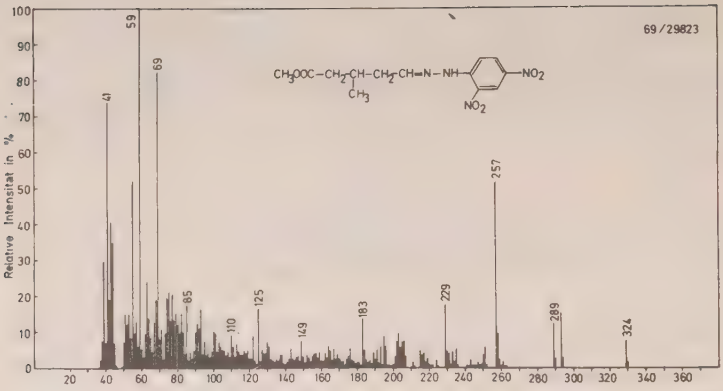


Fig. 18: Massenspektrum von 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13) [19]

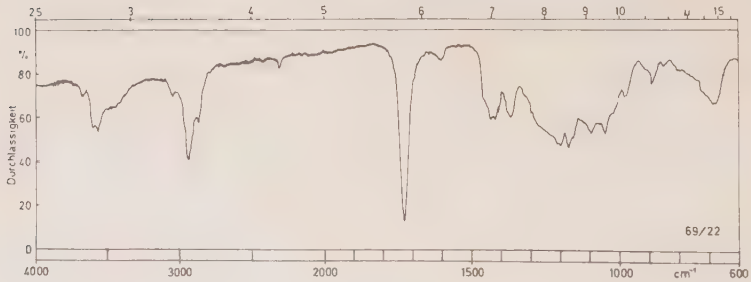


Fig. 19: IR.-Spektrum von 6,7-Dihydroxy-octansäure-methylester in Methylenchlorid [8]

19) Aufgenommen mit einem ASSOCIATED ELECTRICAL INDUSTRIES LTD. MS-9-Gerät der Fa. F. Hoffmann-La-Roche & Co. AG., Basel (Herr Dr. W. Vetter)

spricht der für 2,4-Dinitro-phenylhydrazone charakteristischen Abspaltung von Wasser plus einem Hydroxylradikal in einem metastabilen Uebergang [35]. Dieser wurde bei m/e 257 gefunden. Das Ion mit m/e 289 spaltet wiederum in einem metastabilen Zerfall Methanol ab, was ein Bruchstück mit der Masse 257 und ein Uebergangssignal bei m/e 229 ergibt [32].

4.2.1.2. Identifizierung von 6,7-Dihydroxy-octansäure-methylester (11)

6,7-Dihydroxy-octansäure-methylester (11) wurde als schwach gelb gefärbte,im Gaschromatogramm einheitliche Flüssigkeit mit einer optischen Drehung von $[\alpha]_D^{23} = -15,5°$ (c = 1,223 in Chloroform) erhalten. Die gelbe Farbe dürfte von Spuren Verunreinigungen herrühren. Es liess sich im Hochvakuum unzersetzt destillieren.

Im IR.-Spektrum (Methylenchlorid) (vgl. Fig. 19) liegen die Banden der beiden assoz. Hydroxylgruppen im Bereich von 3300 - 3700 cm^{-1}. Die C=O-Schwingung der gesättigten Methylestergruppe tritt bei 1730 cm^{-1} auf.

Im Einklang mit der vorgeschlagenen Struktur von 11 steht auch das NMR.-Spektrum (siehe Fig. 20 und Tab. 2). Die C-14'-Methylgruppe erscheint wiederum als Dublett mit J = 6 Hz bei 1,25 ppm. Die der Carbonylgruppe benachbarte Methylengruppe C-10' bildet bei 2,33 ppm ein Triplett mit J = 6 Hz. Die Signale bei 1,5 ppm, die nach Integration sechs Protonen entsprechen, sind den drei Methylengruppen C-9', C-8' und C-7' zuzuordnen. Die beiden Methinprotonen, die dem C-6'-und dem C-13'-Proton in Myrothecinsäure entsprechen, erscheinen beide als komplexe Signale bei ca. 3,3 ppm und 3,6 ppm. Ihre eindeutige Zuordnung war erst nach Entkopplungsversuchen im 100-MHz-Spektrum möglich. Da wir die Kopplung des C-6'-Protons mit der C-7'-Methylengruppe erwarteten, wurde zuerst bei 1,5 ppm eingestrahlt. Das breite Signal bei 3,3 ppm verwandelte sich in ein Dublett mit J = 6 Hz. Auf Grund dieser Tatsache darf dieses Signal dem H-Atom an C-6' zugeordnet werden. Die Kopplungskonstante von 6 Hz entspricht dabei der Kopplung C-6' - C-13'. Damit bleibt

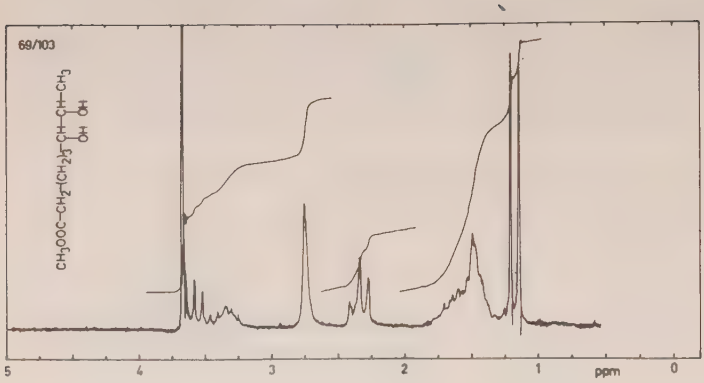


Fig. 20: 100 MHz NMR.-Spektrum von 6,7-Dihydroxy-octansäuremethylester (11) in Deuterochloroform [20]

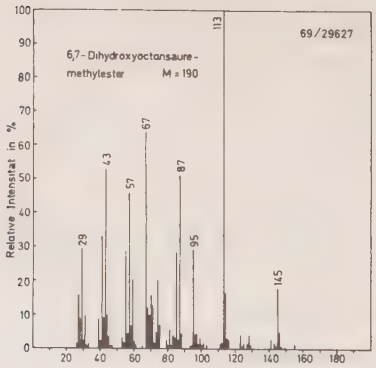
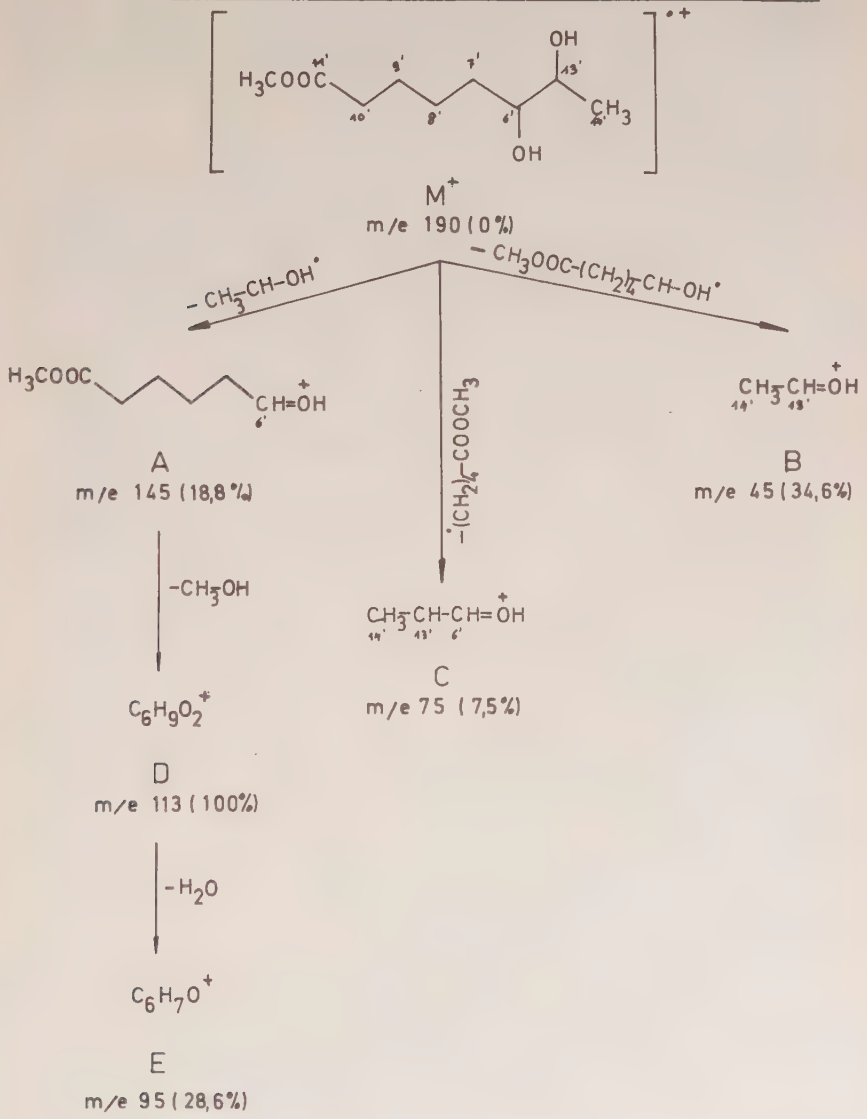


Fig. 21: Massenspektrum von 6,7-Dihydroxy-octansäuremethylester (11) [19]

---

20) Aufgenommen mit einem VARIAN HA-100 D-Spektrometer im phys.-chem. Institut der Universität Basel (Herr H. Huber)

Formelschema 11: Zerfall von 6,7-Dihydroxy-octansäuremethylester (11)



für das H-Atom an C-13' nur noch das Quartett bei 3,58 ppm übrig. Tatsächlich geht dieses in ein Dublett mit J = 6 Hz über, wenn an Stelle der Methylgruppe C-14' (1,25 ppm) eingestrahlt wird. Umgekehrt wird beim Bestrahlen des C-13'-Protons auch das Methylgruppen-Dublett entkoppelt und geht in ein Singulett über.

Im Massenspektrum [21] des Diols 11 (vgl. Fig. 21 und Formelschema 11) tritt ein nach dem Schema der Fragmentierungsreaktionen von einwertigen Alkoholen verlaufender Zerfall ein. Die α-Spaltung ist bei Diolen zwischen den beiden C-Atomen bevorzugt, die die Hydroxylgruppen tragen (C-6' und C-13'). Das höher substituierte Oxoniumion erscheint dabei mit grösserer Wahrscheinlichkeit [36]. In diesem Fall müssten bei dieser Spaltung zwei Bruchstücke A und B entstehen, die die Masse 145 und 45 besitzen. Diese wurden auch mit den relativen Intensitäten von 18,8 % und 34,6 % gefunden. Weitere mögliche Spaltungen sind entweder die Spaltung der Bindung zwischen C-6' und C-7' oder C-13' und C-14'. Der erste Zerfall liefert Bruchstück C mit m/e 75 (relative Intensität 7,5 %). Der andere Zerfall, die Abspaltung der Methylgruppe, wurde nicht beobachtet. Fragment-Ion A kann nun wieder in bekannter Weise Methanol abspalten [32] und in ein Bruchstück D mit der Masse 113 übergehen. D bildet in diesem Spektrum den sog. base peak. Es verliert weiter H_2O zu Fragment E, das bei m/e 95 mit einer relativen Intensität von 28,6 % beobachtet wurde. Eine McLafferty-Umlagerung [31] lässt wiederum ein Ion mit der Masse 74 entstehen (relative Intensität 20,3 %).

4.2.2. Hydrazonspaltung und Oxidation von Glutarsäurealdehyd (10)

Der weitere Abbau des Hydrazons 13 erfolgte gemäss Formelschema 10. Der Aldehyd sollte aus dem Hydrazon 13 freige-

---

21) Wir danken Herrn Dr. W. Vetter, F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel, für die Aufnahme dieses Spektrums.

setzt und zur 3-Methyl-glutarsäure (14) oxidiert werden [22]. Dabei erwies sich aber das Hydrazon 13 als sehr schwer spaltbar. Längeres Kochen von 13 in 2N H_2SO_4 ergab nach Isolierung ausschliesslich Ausgangsmaterial.

Ein Verfahren zur Spaltung von Hydrazonen besteht darin, dass man die Carbonylverbindung durch einen reaktionsfähigeren Aldehyd verdrängt [37]. Besonders beständig und praktisch kaum spaltbar sollen dabei die Phenylhydrazone des 2,4-Dinitro-benzaldehyds sein, die sich auch durch eine sehr grosse Bildungstendenz auszeichnen. Ein Versuch, den Aldehyd 13 durch 4-stündiges Kochen in 2N HCl mit einer äquivalenten Menge 2,4-Dinitrobenzaldehyd freizusetzen, verlief aber negativ. Einzig nach 48-stündigem Kochen unter gleichen Bedingungen und nachfolgender Oxidation und Veresterung des Reaktionsproduktes konnten im Gaschromatogramm Spuren von 3-Methyl-glutarsäuredimethylester (15) nachgewiesen werden. Etwas besser verlief die Reaktion im Bombenrohr. Nach 16-stündigem Erhitzen des Hydrazons 13 auf 215° mit einem dreifachen Ueberschuss von 2,4-Dinitrobenzaldehyd in Aethanol-Wasser konnte im Dünnschichtchromatogramm wenig 2,4-Dinitrobenzaldehyd-hydrazon (16) nebst 13 nachgewiesen werden. Noch etwas besser verlief die Reaktion, wenn äquivalente Mengen des Hydrazons 13 und 2,4-Dinitrobenzaldehyd in 3N HCl während 12 Stunden auf 150 - 200° erhitzt wurden. Nach Oxidation des Reaktionsproduktes mit CrO_3 und Behandeln mit Diazomethan (siehe Exp. Teil) konnte in ca. 10 % Ausbeute 3-Methyl-glutarsäuredimethylester (15) isoliert werden, der aber nur zu etwa 70 % rein war. Wegen der geringen Substanzmenge konnte das erhaltene Präparat nicht mehr weiter gereinigt werden.

Die Identifizierung und Charakterisierung des durch Abbau erhaltenen 3-Methyl-glutarsäure-dimethylesters mit authentischem Material erfolgte nach Dünnschichtchromatogramm, Gaschromatogramm (vgl. Fig. 22), IR.-Spektrum und Massenspektrum. Dabei erwiesen sich in allen Fällen die beiden Substanzen als identisch.

---

22) Zur Methodik siehe [37]

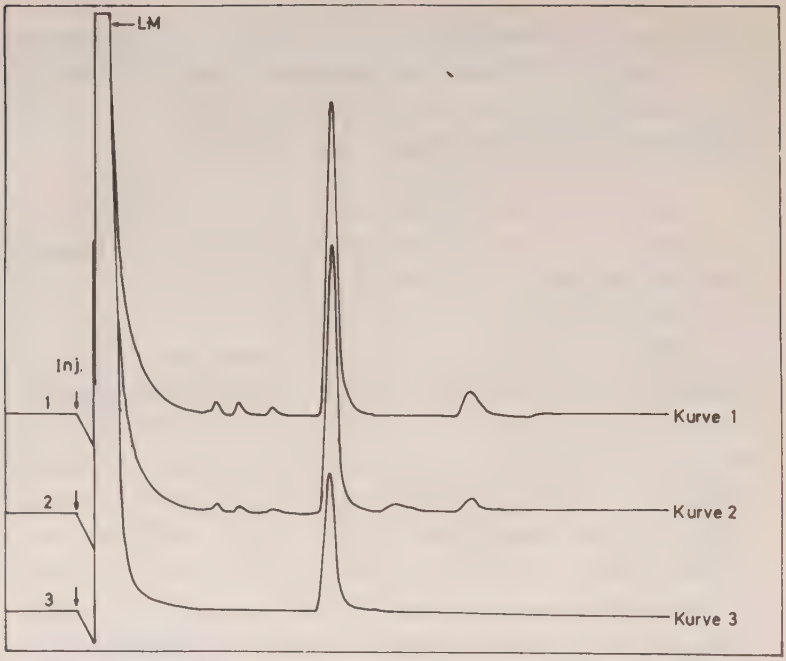


Fig. 22: Gaschromatogramm von 3-Methylglutarsäure-dimethyl - ester (15) [17]

Kurve 1: 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15) (Rohprodukt)
Kurve 2: 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15) (nach Dest.)
Kurve 3: 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15) (Referenz)
(Ofentemp.: 165°; Injecttemp.: 225°; Trägergas: Helium)

4.2.3. Spaltung des Diols mit Perjodsäure

Das Diol 11 wurde mit wässeriger Perjodsäure gespalten, wobei als Bruchstücke Adipinsäurealdehyd (17) und Acetaldehyd (18) resultierten, der als Dimedonderivat (21) charakterisiert wurde [38] [39] [40].

Da das angewandte Verfahren eine gleichzeitige Isolierung der beiden Bruchstücke nicht erlaubte, mussten die beiden Fragmente in verschiedenen Versuchen gewonnen werden.

Der Acetaldehyd (18) wurde aus der wässerigen Perjodsäure-Lösung in eine Dimedonlösung destilliert und durch Erwärmen mit

Säure in sein Anhydrid 21 übergeführt, da sich diese besser reinigen lässt. Die Reinigung erfolgte auf Dickschicht-Kieselgelplatten und durch Umkristallisieren aus Methanol-Wasser. Wegen der geringen Substanzmenge liess sich 21 nicht ganz rein herstellen. Immerhin zeigte das erhaltene Präparat einen Smp. von 165 - 171°. [23] Der Mischsmp. mit authentischem Material zeigte aber keine weitere Depression mehr. Die Indentifizierung erfolgte mit Hilfe des Dünnschichtchromatogramms, des IR.-Spektrums und des Massenspektrums. Dabei war in allen Fällen das durch Spaltung mit Perjodsäure gewonnene Dimedonderivat identisch mit einem authentischem Präparat. Im Massenspektrum

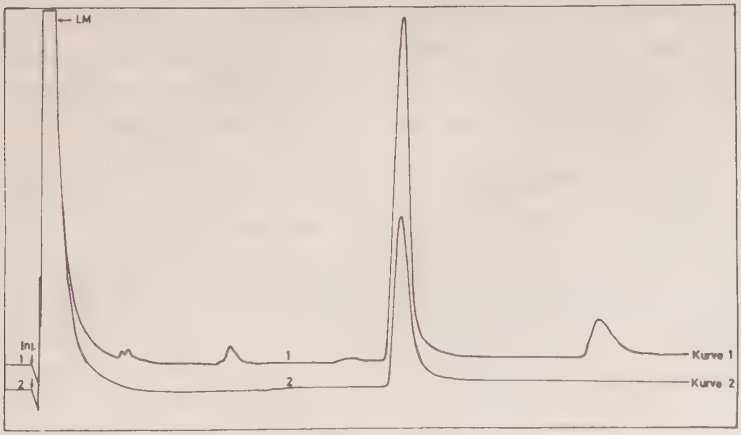


Fig. 23: Gaschromatogramm von Adipinsäure-dimethylester (20)[17]

Kurve 1: Adipinsäure-dimethylester (20) aus Perjodatspaltung
Kurve 2: Adipinsäure-dimethylester (20) (Referenz)

wurde das Molekularion bei m/e 288 gefunden, was mit der erwarteten Bruttoformel von $C_{18}H_{24}O_6$ übereinstimmt.

---

23) Vgl. Smp. Lit. 174° [40]

In einem zweiten Versuch wurde der bei der Perjodsäurespaltung erwartete Adipinsäurealdehyd (17) sofort mit CrO_3-H_2SO_4 in Aceton [17] oxidiert und mit Diazomethan in Adipinsäure-dimethylester (20) übergeführt. 20 war im Gaschromatogramm identisch mit einem käuflichen Präparat. Verseifung des Dimethylesters 20 lieferte Adipinsäure (19), die ebenfalls nach Smp., Mischsmp. und IR.-Spektrum mit authentischer Säure identisch war. Die Elementaranalyse stimmte auf die Bruttoformel $C_6H_{10}O_4$.

Mit diesen Ergebnissen darf die vorgeschlagene Struktur von Myrothecinsäure (3) als gesichert betrachtet werden. Es konnte die Lage der Sauerstoffatome als Brücken zwischen C-5' und C-6' und C-5' und C-13' in Form eines Äthylenacetals bewiesen werden. Die Myrothecinsäure (3) ist strukturell sehr eng mit Roridinsäure [8] und 2',3'-Epoxy-2-anhydro-roridinsäure [9] verwandt, die beide an C-13' eine Hydroxylgruppe besitzen. Sie besitzt die gleiche Sequenz der C-Atome.

In der Myrothecinsäure (3) sind die C-Atome Nr. 5', 6' und 13' chiral. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse ist eine Aussage über die Konfiguration von C-5' nicht möglich. Hingegen lassen die NMR.- Daten Schlüsse bezüglich der relativen Konfiguration der Chiralzentren C-6' und C-13' zu. Im Prinzip sind hier vier optische Isomeren möglich, die durch die Teilformeln A bis D dargestellt sind.

1) Struktur A: Die 6'-H- und 13'-H-Atome sind trans-ständig zueinander angeordnet. 6'-H ragt nach unten, 13'-H ist nach oben gerichtet.

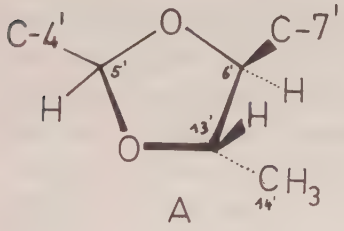
2) Struktur B: Die 6'-H- und 13'-H-Atome sind ebenfalls transständig zueinander angeordnet, wobei 6'-H nach oben und 13'-H nach unten gerichtet ist.

3) Struktur C: Die 6'-H- und 13'-H-Atome sind cis-ständig zueinander angeordnet, wobei beide nach unten gerichtet sind.

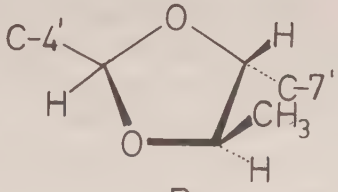
4) Struktur D: Die 6'-H- und 13'-H-Atome sind ebenfalls cisständig zueinander angeordnet, wobei beide nach oben ragen.

In A und B bilden die beiden H-Atome an C-6' und C-13' einen Diederwinkel von angenähert 120°, während in C und D der Diederwinkel etwa 0° beträgt.

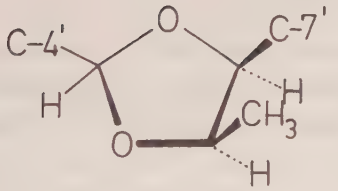
Formelschema 12: Zur Stereochemie von C-6' und C-13'



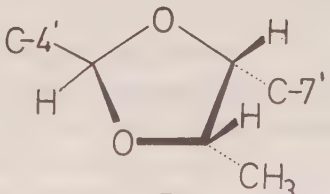
A



B



C



D

Auf Grund der Karplus-Gleichung [44] ist für einen Diederwinkel von 120° eine Spin-Spin-Kopplungskonstante von ca. 2,0 Hz, für einen solchen von 0° hingegen eine Kopplungskonstante von ca. 8,5 Hz zu erwarten. In den Spin-Spin-Entkopplungsversuchen wurde für die Kopplung des C-6'- mit dem C-13'-Proton eine Kopplungskonstante von 6 Hz gefunden (siehe Kap.3.2.2.). Damit darf angenommen werden, dass die beiden Protonen cisständig angeordnet sind. Zieht man zudem in Betracht, dass benachbarte elektronegative Substituenten - in diesem Fall die beiden Sauerstoffbrücken - die Kopplungskonstante benachbarter Protonen erniedrigen, so stimmt der gefundene Wert der Kopplungskonstanten von 6 Hz sehr gut mit dem berechneten Wert von 8,5 Hz überein.

Damit können die beiden Strukturmöglichkeiten A und B ausgeschlossen werden. Es verbleiben die beiden Diastereoisomeren C und D mit cis-ständiger Anordnung der Substituenten an C-6'

und C-13'. Ob in Roridin H die Anordnung entsprechend C oder D vorliegt, kann zur Zeit nicht entschieden werden, da die absolute Konfiguration der Myrothecinsäure noch unbekannt ist.

5. Verknüpfung der Hydrolysenprodukte

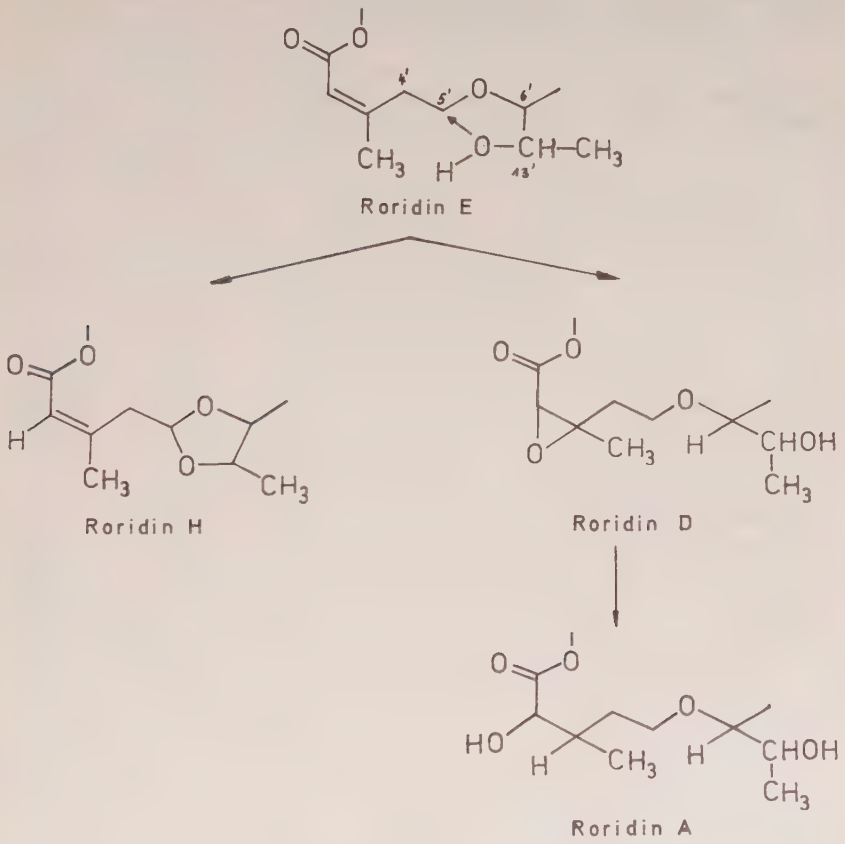
In Roridin H müssen die beiden Hydroxylgruppen von Verrucarol mit den beiden Carboxylgruppen der Myrothecinsäure verestert sein. Für den daraus resultierenden Diester sind damit zwei Strukturen möglich. In der ersten sind die C-1'-Carboxylgruppe mit der primären C-15-Hydroxylgruppe und die doppelt konjugierte C-11'-Carboxylgruppe mit der sekundären C-4-Hydroxylgruppe von Verrucarol verestert. In der zweiten Struktur sind die beiden Esterbindungen vertauscht.

Die Verknüpfung der cis,trans-Muconsäure mit dem C-4-Hydroxyl des Verrucarols ist in Verrucarin A durch einen oxidativen Abbau [41] und die Röntgen-Strukturanalyse [42], in Verrucarin J durch partielle Hydrolyse [7] und in Roridin A ebenfalls durch einen oxidativen Abbau [43] bewiesen worden. Eine partielle Hydrolyse von Roridin H ist bisher nicht gelungen. Eine Hydrolyse von Roridin H in 0,085$\underline{N}$ KOH führte zu keiner Spaltung des Metaboliten.

Auf Grund der engen strukturellen Verwandtschaft zwischen den Verrucarinen und Roridinen dürfte die Sequenz der Bausteine im Makrozyklus in beiden Verbindungsreihen analog sein. Darum halten wir die für Roridin H vorgeschlagene Strukturformel für gut begründet.

In Roridin H liegt demnach ein makrozyklischer Diester in Form eines Äthylenacetals vor. Das Antibioticum stellt eine biogenetisch interessante, strukturelle Variante der anderen Roridine dar. Die Vermutung liegt nahe, dass Roridin E ein biogenetischer Vorläufer von Roridin H ist. Roridin E besitzt an C-2' - C-3' ebenfalls eine Doppelbindung und an C-6' eine Seitenkette, die an C-13' eine Hydroxylgruppe trägt [10]. Roridin

Formelschema 13: Mögliche biogenetische Verknüpfung der Roridine



E kann nun entweder durch Epoxidierung der C-2' - C-3'-Doppelbindung und Oeffnung des Epoxids in Roridin D bzw. Roridin A übergehen oder ein Ringschluss der sekundären Hydroxylgruppe an C-13' nach C-5' würde das Äthylenacetal liefern, wie es in Roridin H vorliegt.

Analoge biogenetische Verhältnisse in Bezug auf C-2' und C-3' liegen in der Reihe Verrucarin J, Verrucarin B und Verrucarin A vor.

Tab. 2 Zuordnung der H-Atome in den NMR.-Spektren [1]

Substanz	C-2	C-3	C-4	C-7	C-8	C-9
Roridin H[2]	3.8d (5)	3) 1.8-2.7	4) ca.5.9	3) 1-7-2.7	3) 1.7-2.7	--
Octahydro-roridin H	3.8d (5)	3) 1.8-2.7	5.6dd (4/8)	3) 1.7-2.7	3) 1.7-2.7	3) ca.1.5
Substanz	**C-2'**	**C-3'**	**C-4'**	**C-5'**	**C-6'**	**C-7'**
Roridin H	5.67s	--	2.64d (11)	5.58dd (3.5/ 8)	5) 4.03	ca. 5.9m[4]
Octahydro-roridin H	ca. 2.3 3)	ca. 1.6 3)	ca. 1.5 3)	5.09t (4)	ca. 3.6 4)	ca. 1.5 3)
Myrothecin-säuredime-thylester[7]	8) 5.78s	--	2.50d (d)	ca. 9) 5.2	4.1t (7.0)	5.96dd (7.0/ 15.5)
Hexahydro-myrothecin-säure	ca. 2.35 3)	ca. 1.6 3)	ca. 1.6 3)	5.10t (4.5)	4) 3.4-3.9	ca. 1.6 3)
Hexahydro-myrothecin-säure-dime-thylester[2]	2.32t (7)	13) 1.26q (6)	4) 1.5-1.7	5.06t (5)	ca. 3.7[14]	3) 1.5-1.7
3-Methyl-glutarsäure-aldehyd-hy-drazon	2.38	1.17m[4]	2.38	7.58t (5)	--	--
6,7-Dihydro-xy-octansäu-remethyl-ester[7]	--	--	--	--	16) 3.33m	ca. 1.5 3)
Roridinsäu-re-dimethyl-ester [8]	4.25d (3.5)	ca. 2.1	1.7dd (6)	3.5-3.8m	3.5-3.8m	5,85dd (7.5; 15.5)

C-10	C-11	C-13	C-14	C-15	C-16
5.42d (4)	3.64 [4)]	2.96dd (AB(4))	0.85s	4.15dd (AB(12))	1.69s
ca. 1.5 [3)]	ca. 3.6 [4)]	2.97dd (AB(4))	0.83s	4.2dd (AB(12))	0.85d [4)]
C-8'	**C-9'**	**C-10'**	**C-12'**	**C-13'**	**C-14'**
7.68dd (11/ 15.5)	6.55t (11)	5.79d (11)	2.27s [6)]	ca. 3.65m [4)]	1.32d (6)
ca. 1.5 [3)]	ca. 1.5 [3)]	ca. 2.3 [3)]	1.01d (6)	ca. 3.6 [4)]	1.18d (6)
7.60dd (11/ 15.5)	6.56t (16)	5.72d (11) [10)]	2.01s und 2.24s [11)]	ca. 3.18 [12)]	1.28d (6)
ca. 1.6 [3)]	ca. 1.6 [3)]	ca. 2.35 [3)]	1.05d (6)	3.4-3.9 [4)]	1.20d (6)
1.5-1.7 [3)]	1.5-1.7 [3)]	2.19m	1.01d (6)	3.48br [15)] (6)	1.21d (6)
--	--	--	ca. 1.1 [4)]	--	--
ca. 1.5 [3)]	ca. 1.5 [3)]	2.33t (6)	--	3.58q (6)	1.17d (6)
7.58dd (11/ 15.5)	6.40t (16)	5.72d (11)	0.85d (6.5)	3.3-3.7	1.12d (6)

1) δ-Werte in ppm mit $Si(CH_3)_4$ (TMS) als internem Standard. Alle Substanzen wurden in $CDCl_3$ gemessen. Bei eindeutig erkennbaren Feinstrukturen bedeuten: s = Singulett, d = Dublett, dd = doppeltes Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, br = breit. In Klammern sind die Spin-Spin-Kopplungskonstanten J in Hz angegeben.

2) 220 MHz-Spektrum.

3) Die Protonen können nicht lokalisiert werden.

4) Das Signal dieses Protons wird durch andere Signale ganz oder teilweise überdeckt.

5) Das Signal wird vom rechten Teil des AB-Systems der C-15-Protonen von Verrucarol überdeckt.

6) Im 60 MHz-Spektrum long-range-Kopplung mit J = 1,5 Hz.

7) 100 MHz-Spektrum.

8) Im 60 MHz-Spektrum unscharfes Signal.

9) Unscharfes Signal, vermutlich Triplett mit J = 5 Hz.

10) Das Dublett ist durch das Signal des C-2'-Protons z.T. überdeckt.

11) Im 60 MHz-Spektrum zwei Dubletts mit Fernkopplung von J = 1,5 Hz bei 1,98 und 2,25 ppm.

12) Die Signale werden z.T. von den Signalen der $-OCH_3$-Gruppe überdeckt. Nach NMR.-Spektrum in einem Gemisch von Deuterochloroform/Deuterobenzol vermutlich ein Quartett mit J = 6 Hz.

13) Das Quartett wird z.T. vom Signal der C-14'-Methylgruppe überdeckt.

14) Das Signal dürfte ganz unter den $-OCH_3$-Signalen liegen.

15) Vermutlich Quartett mit J = 6 Hz.

16) Vermutlich Quartett mit J = 6 Hz. Nach Entkopplungsversuchen $J_{6'/13'} = 6$ Hz.

Experimenteller Teil

Allgemeines

Die Smp. wurden auf einem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert. Substanzproben zur Messung der Spektren und der spez. Drehungen wurden ca. 2 Std. im Hochvakuum, zur Elementaranalyse bei 0,01 Torr bei der angegebenen Zeit und Temperatur getrocknet. Die Elementaranalysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium des Instituts (E. Thommen).

Die opt. Drehungen wurden auf einem Perkin-Elmer Polarimeter, Modell 141, aufgenommen. Die IR.-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer-IR.-Gitterspektrophotometer, Modell 125, oder einem Beckman-IR.-Spektrophotometer, Modell JR 8 und die 60 MHz-NMR.-Spektren mit einem Varian-Spektrometer A-60 im Spektrallaboratorium unseres Instituts (K. Aegerter) aufgenommen.

Die Gaschromatogramme wurden mit einem F + M-Labor-Gaschromatographen, Modell 700, Säule: 10 % SE-30 auf Chrom. W silan., 80 - 100 mesh, 2 m x 2 mm ausgeführt.

Für die Säulenchromatographie nach der Durchlaufmethode [45] oder in Anlehnung an die Duncan-Methode [46] diente Kieselgel der Fa. Merck, Darmstadt, Korngrösse 0,05 - 0,2 mm. Für die Dünnschichtchromatographie nach Stahl [47] wurde Kieselgel G der Fa. Merck als Adsorbens verwendet. Die Flecke wurden im Allgemeinen durch J_2-Dämpfe oder unter der UV.-Lamp sichtbar gemacht. Für die präparative Dickschichtchromatographie [48] wurde Kieselgel PF_{254} der Fa. Merck verwendet. Bei UV.-inaktiven Substanzen wurde 3-Hydroxypyren-5,8,10-trisulfonsaures Natrium als Fluoreszenzindikator verwendet.

Uebliches Aufarbeiten bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in Methylenchlorid oder Äther, Waschen mit $2\underline{N}$ H_2SO_4, $2\underline{N}$ Na_2CO_3 und H_2O, Trocknen über Na_2SO_4 oder Ca(

und Eindampfen der Lösung im Vakuum.

Abkürzungen: DC = Dünnschichtchromatographie, GC = Gaschromatogramm.

1. Roridin H (1) und Octahydrororidin H (2)

1.1. Züchtung und Isolierung von Roridin H (1) [2] [24]

Der Stamm S 1198 von Myrothecium verrucaria wurde in 100 l Nährlösung (40 g Glucose, 4 g Malzextrakt der Schweiz. Ferment A.G., Basel, 4 g Bacto-Yeast-Extrakt Difco, 4 g Pepton Cudahay, 4 g KH_2PO_4, 4 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 8,5 g $NaNO_3$ und entmineralisiertes Wasser ad 1 Liter) in einem 100-Liter-Fermenter unter Rühren (300 Umdrehungen/Min.) und Belüftung (2/3 - 1 Liter/Min.) 44 Std. bei 27° inkubiert. Die Kulturbrühe wurde viermal mit Essigester ausgerührt. Die mit Wasser gewaschenen und über $MgSO_4$ getrockneten Auszüge lieferten 55 g Rohextrakt. Dieser wurde dreimal in Petroläther aufgenommen, um das Antischaummittel Antifoam B zu entfernen. Der Rohextrakt wurde an 1600 g Kieselgel chromatographiert.

Die Fraktionen 1 - 20 (eluiert mit Methylenchlorid und Methylenchlorid-Methanol-(100:0,1 bis 100:1) (je 1600 ml)) ergaben 10,3l g fettartiges Material, das nicht näher untersucht wurde.

Die Fraktionen 21 und 22 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1) (je 1500 ml)) ergaben 12,55 g Rohprodukt, das nach DC (System: Benzol-Tetrahydrofuran-(65:15), Äther oder Methylenchlorid-Methanol-(100:2)) zum grossen Teil Roridin H (1) neben Verrucarin B, J und Verrucarin A und Roridin E enthielt.

---

24) Die Züchtung erfolgte im mikrobiologischen Laboratorium der Firma Sandoz A.G., Basel (Leitung Herr J. Bianchi). Wir danken Herrn J. Bianchi an dieser Stelle bestens für die Durchführung dieses Versuches.

Die Fraktionen 23 - 26 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1) (je 1500 ml)) ergaben 8,03 g Material, das die Roridine D, E und ev. A enthielt, und die Fraktionen 27 - 31 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1,5 bis 100:6)) ergaben 5,90 g Material, das nach DC aus Roridin D und A und UV.-inaktivem Material bestand.

Die Fraktionen 32 - 38 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:7 bis 100:10) (je 1500 ml)) ergaben noch 11,59 polares Material, das noch nicht näher untersucht wurde.

Das Mycel wurde nach Filtration von der Kulturbrühe im Mixer fein vermahlen und mit Essigester extrahiert. Es resultierten nochmals 13 g Rohextrakt, der an 400 g Kieselgel chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 17 - 18 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1) (je 400 ml)) ergaben nochmals 1,96 g Material, das nach DC Roridin H (1) enthalten konnte.

Die vereinigten Roridin H (1) enthaltenden Fraktionen der beiden Säulen (14,51 g) wurden nochmals an 1500 g Kieselgel chromatographiert.

Die Fraktionen 33 - 46 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:0,25) (je 1000 ml)) ergaben 5,73 g Roridin H (1), das nach DC nur noch Spuren Verrucarin B und J enthielt. Aus Methylenchlorid-Äther oder Methylenchlorid-Methanol wurden insgesamt 4,72 g reines, krist. Roridin H erhalten, das nach UV.-, IR.- und NMR.-Spektrum identisch war mit früher isoliertem 1 [8] [14].

1.2. Charakterisierung von Roridin H (1)

Roridin H (1) kristallisiert aus Aceton-Äther, Methylenchlorid-Methanol oder Methylenchlorid-Äther in farblosen Nadeln. 1 zeigt keinen def. Smp.. Bei ca. 220° beginnt es sich gelb und braun zu verfärben. Bei ca. 270° beginnt langsame Zersetzung. Die Substanz schmilzt nicht unter 325°. $[\alpha]_D^{23} = +31° \pm$

1° (c = 1,160 in Chloroform); $[\alpha]_D^{23}$ = + 40,3° ± 1° (c = 1,065 in Benzol); $[\alpha]_D^{23}$ = + 31,5° ± 1° (c = 0,855 in Dioxan).

UV.-Spektrum (vgl. Fig. 2): λ_{max} bei 195 nm (log ε = 4,2); λ_{max} bei 224 nm (log ε = 4,39); λ_{max} bei 260 nm (log ε = 4,26).

IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei: 2970 - 2910, 1710, 1645, 1600, 1380, 1355, 1220, 1175, 1115, 1105, 1075, 1035, 995 und 965 cm^{-1}.

IR.-Spektrum (KBr, P.E. Nr. 21) u.a. Banden bei: 2960, 2880, 2830, 1710, 1656, 1603, 1440, 1375, 1352, 1225, 1182, 1150, 1115, 1101, 1087, 1071, 1033, 1005, 992, 971 und 832 cm^{-1} (vgl. Fig. 4).

220 MHz-NMR.-Spektrum vgl. Fig. 5 und Tab. 2.

Ein hochauflösendes Massenspektrum [6] ergab ein Molekularion bei m/e 512,244346 ± 0,11 (vgl. Fig. 3).

Zur Analyse wurde 12 Std. bei 70° getrocknet.

$C_{29}H_{36}O_8$	Ber.	C 67,97	H 7,08 %
(512,24)	Gef.	" 66,86	" 7,07 %
	"	" 66,78	" 7,18 %
	"	" 66,34	" 7,10 %
	"	" 66,61	" 7,13 %
	"	" 66,85	" 6,98 %
	"	" 66,40	" 7,08 %

Mikrohydrierung [13]: 6,544 mg reines Roridin H (1) in 2 ml Eisessig wurden mit 12 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ bei 0° und 760 Torr hydriert.

H_2-Aufnahme:	ber. (4 Doppelbindungen)	1,260 ml
	gef.	1,270 ml

1.3. Octahydrororidin H (2) aus Roridin H (1)

Eine Lösung von 300 mg Roridin H (1) in 50 ml Eisessig wurde in Gegenwart von 100 mg vorhydriertem $PtO_2 \cdot H_2O$ bei 23°/760 Torr hydriert. Nach 1,5 Std. war die Hydrierung zum Stillstand gekommen, wobei 4,2 Aequivalente Wasserstoff aufgenommen worden waren. Nach Abfiltrieren des Katalysators durch eine Schicht Celite lieferte das Filtrat nach Eindampfen 300 mg rohes

Octahydrororidin H (2).

170 mg rohes 2 wurden an 100 g Kieselgel chromatographiert. Die Fraktionen 1 - 7 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1) (je 200 ml)) ergaben 4,3 mg Material, das verworfen wurde. Die Fraktionen 8 - 14 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:1) (je 50 ml)) ergaben 106 mg farbloses Octahydrororidin H (2), das im DC einheitlich war. Trotz mehrmaliger Chromatographie auf Dickschicht-Kieselgelplatten konnten bisher keine Kristalle von 2 erhalten werden. $[\alpha]_D^{23} = -4{,}45° \pm 1°$ (c = 1,074 in Chloroform); $[\alpha]_D^{23} = -4{,}25° \pm 1°$ (c = 1,012 in Chloroform.

IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei: 2930, 2870, 1725, (ges. C=O), 1480, 1160, 1085, 1035, 965 cm^{-1} (vgl. Fig. 5).

NMR.-Spektrum vgl. Fig. 7 und Tab. 2.

Im hochauflösenden Massenspektrum [6] trat das Molekularion bei m/e 520,302786 ± 0,11 auf.

Zur Analyse wurde 14 Std. bei 110° getrocknet.

$C_{29}H_{44}O_8$ Ber. C 66,89 H 8,51 % Gef. C 66,21 H 8,34 %
(520,3)

2. Hydrolytische Spaltungen

2.1. Hydrolyse von Roridin H (1)

2.1.1. Hydrolyse mit 1,4N Na_2CO_3: Eine Lösung von 100 mg 1 in 20 ml Äthanol wurde mit 20 ml 2,8N wässeriger Na_2CO_3-Lösung versetzt, wobei das Carbonat teilweise ausfiel. Das Gemisch wurde 140 Std. bei 22° gerührt. Das Methanol wurde im Vakuum entfernt und die alkalische Lösung fünfmal mit Methylenchlorid extrahiert, die Methylenchlorid-Auszüge dreimal mit H_2O gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Es wurden 95 mg krist. Rückstand erhalten, der im DC hauptsächlich aus Roridin H (1) bestand.

2.1.2. Hydrolyse mit 0,085N KOH: Eine Lösung von 50 mg 1 in 10 ml Methanol wurde mit 10 ml einer 0,17N KOH-Lösung (Methanol-H_2O-(9:1)) versetzt und 24 Std. bei 22° gerührt. Nach Aufarbeiten analog zu 2.1.1. wurden 52 mg krist. Material erhalten, das nach DC zum grössten Teil aus 1 bestand.

2.1.3. Hydrolyse mit 0,5N KOH: Eine Lösung von 150 mg 1 in 50 ml 0,5N KOH-Lösung in Methanol wurde 15 Std. bei 50° gerührt. Sofort nach Zugabe der KOH-Lösung trat intensive Gelbfärbung ein. Im DC war nach 15 Std. kein 1 mehr vorhanden. Nach Zugabe von ca. 50 ml H_2O und Einengen im Vakuum wurde sechsmal mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Nach Aufarbeitung analog zu 2.1.1. resultierten 63 mg einheitliches Rohprodukt, das nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther reines farbloses Verrucarol (8) in Nadeln vom Smp. 157 - 158° und $[\alpha]_D^{23} = -38{,}6° \pm 1°$ (c = 1,046 in Chloroform) ergab. Nach Misch-Smp., DC, opt. Drehung, IR.-Spektrum und NMR.-Spektrum identisch mit einem authent. Präparat [5].

Die obige wässerige alkalische Phase wurde mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 angesäuert und zehnmal mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherextrakte ergaben nach Waschen mit wenig H_2O und Trocknen über $CaCl_2$ 200 mg öligen, schwach gefärbten Rückstand, der die Myrothecinsäure (3) enthielt. Der Rückstand war im DC (System Methylenchlorid-Methanol-Ameisensäure-(100:5:2)) nicht einheitlich. Er wurde dreimal auf Kieselgel-Dickschichtplatten aufgetrennt (System Methylenchlorid-Methanol-Ameisensäure-(100:5:2)). Es resultierten dabei 39 mg DC-reine Myrothecinsäure (3) als schwach gelb gefärbtes Oel. Charakterisierung siehe bei 3.1.

2.1.4. Hydrolyse mit 1N KOH: 1010 mg 1 wurden mit 90 ml 1N KOH-Lösung in Methanol versetzt und 20 Std. bei 22° gerührt. Nach Zugabe von 90 ml H_2O und Einengen im Vakuum wurde sechsmal mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Der Methylenchlorid-Extrakt ergab 494 mg rohes Verrucarol (8), das aus Aceton-Äther umkristallisiert wurde.

Zur Isolierung der sauren Hydrolysenprodukte wurde die wässerige alkalische Phase mit konz. H_2SO_4 unter Eiskühlung auf pH 3 angesäuert und sechsmal mit Äther ausgeschüttelt. Aus den Ätherextrakten resultierten nach Aufarbeiten analog zu 2.1.3. 520 mg Rohprodukt als schwach gelb gefärbtes Oel, das 3 enthalten sollte.

Das Rohprodukt wurde sofort bei 0° mit ätherischem Diazomethan versetzt. Nach 5 Min. wurde bei 0° das überschüssige Diazomethan im Vakuum entfernt, worauf nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum 525 mg hellgelbes Oel zurückblieb, das im DC (System Äther-Pentan-(6:4); Benzol-Äther-(7:3); Methylenchlorid-Methanol-(100:1,5)) einen Hauptfleck und einen polareren Nebenfleck zeigte. 270 mg des Rohproduktes wurden an 250 g Kieselgel chromatographiert.

Die Fraktionen 1 - 28 (eluiert mit Benzol-Äther-(100:1 bis 100:2) (je 250 ml)) ergaben 12,6 mg Material, das verworfen wurde.

Die Fraktionen 29 - 36 (eluiert mit Benzol-Äther-(100:2 bis 100:3) (je 250 ml)) ergaben 103 mg Material, das zur Hauptsache aus Myrothecinsäure-dimethylester (4) bestand. Nach weiterer Reinigung auf Dickschicht-Kieselgelplatten (System Benzol-Äther-(4:6) wurde 4 als schwach gelb gefärbtes Oel erhalten. Charakterisierung siehe bei 3.2.

Die Fraktionen 38 - 47 (eluiert mit Benzol-Äther-(100:3 bis 100:8) (je 250 ml)) ergaben 34,1 mg Material. Durch weitere Reinigung auf Kieselgel-Dickschichtplatten konnte neben 4 eine zweite im DC (System: Benzol-Äther-(7:3)) einheitliche Substanz erhalten werden. Charakterisierung siehe unten.

Die Fraktionen 48 - 54 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:5 bis 100:10) (je 250 ml)) ergaben noch 108 mg, im DC nicht einheitliches Material, das nicht näher untersucht wurde.

Die aus den Fraktionen 38 - 47 isolierte Substanz zeigt im IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei:

2965, 1740, 1720, 1650, 1610 cm^{-1}. Nach NMR.-Spektrum und GC (Ofentemp.: 195°, Injekttemp.: 225°, Trägergas: Helium) muss es sich um ein Gemisch mehrerer Substanzen (Isomerengemisch) handeln. Es wurde nicht weiter untersucht.

In weiteren Versuchen, Koridin H (1) mit verschiedenen konzentrierten Lösungen von KOH in Methanol bei 22° zu hydrolysieren, war die Reaktion nach folgenden Zeiten beendet:

0,25$\underline{N}$	KOH:	90 Std.
0,5$\underline{N}$	KOH:	90 Std.
1$\underline{N}$	KOH:	9 Std.
2$\underline{N}$	KOH:	5 Std.

Es wurden jeweils die gleichen Hydrolysenprodukte erhalten.

2.2. Hydrolyse von Octahydrokoridin H (2)

943 mg rohes 2 wurden mit 150 ml 1$\underline{N}$ KOH-Lösung in Methanol versetzt und 15 Std. bei 22° gerührt. Dann wurde mit 150 ml H_2O versetzt und das Methanol im Vakuum entfernt. Die alkalische wässerige Lösung wurde zehnmal mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und wie bei 2.1.1. beschrieben aufgearbeitet. Es resultierten 437 mg rohes Dihydroverrucarol (9), das aus Aceton-Äther reine, farblose Kristalle vom Smp. 148 - 152° lieferte. $[\alpha]_D^{23} = -8{,}8° \pm 1°$ (c = 1,033 in Chloroform). 9 war nach Misch-Smp., opt. Drehung, DC und IR.-Spektrum identisch mit einem authent. Präparat [5].

Die alkalisch wässerige Phase wurde zur Isolierung der sauren Hydrolysenprodukte mit konz. H_2SO_4 auf pH 3 gebracht und zehnmal mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Äther-Extrakte ergaben nach Aufarbeitung 549 mg rohe Säure 5 als schwach gelb gefärbtes Oel. Zur Reinigung wurden 39 mg dieses Materials zweimal auf Dickschicht-Kieselgelplatten getrennt (System: Benzol-Methanol-Ameisensäure-(50:10:1)). Es resultierten 34 mg reine Hexahydromyrothecinsäure (5) als farblo-

ses Oel. Weitere Charakterisierung siehe bei 3.3.

Es wurden weitere Spaltungen von Octahydrororidin H (2) in 0,25N KOH-Lösung in Methanol und 0,5N KOH-Lösung in Methanol durchgeführt, wobei jeweilen die gleichen Hydrolysenprodukte in ähnlichen Ausbeuten erhalten wurden.

3. Myrothecinsäure (3) und Derivate der Myrothecinsäure (3)

3.1. Myrothecinsäure (3)

Schwach gelb gefärbtes Oel. Im DC in folgenden Systemen einheitlich: Methylenchlorid-Methanol-Ameisensäure-(100:5:2), Benzol-Methanol-Ameisensäure-(50:10:2), nicht einheitlich in Äther-Pentan-Ameisensäure-(60:40:2).

UV.-Spektrum (Äthanol): λ_{max} bei 219 nm (log ε = 3,86); λ_{max} bei 252 nm (log ε = 4,19).

IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei: 2400, 3400 (OH, assoz.), 1690 (breit, C=O unges.), 1640 und 1602 cm^{-1} (C=C).

Das NMR.-Spektrum deutet auf ein Substanzgemisch. Es wurde nicht weiter aufgetrennt. Die Substanz zersetzt sich beim Stehen.

3.2. Myrothecinsäure-dimethylester (4)

Schwach gelb gefärbtes Oel, das sich bei längerem Stehen zersetzt. Im DC in folgenden Systemen einheitlich: Benzol-Äther-(7:3); Methylenchlorid-Methanol-(100:1).

UV.-Spektrum (Äthanol) (vgl. Fig. 8): λ_{max} bei 220 nm (log ε = 4,13), λ_{max} bei 255,5 nm (log ε = 4,36).

IR.-Spektrum (Film, Beckman IR 8) u.a. Banden bei 2975, 2875, 1710, (C=O, unges.), 1637, 1598 cm^{-1} (C=C), 1430, 1372, 1350, 1315, 990 und 960 cm^{-1} (vgl. Fig. 9). Im GC (Ofentemp. 195°, Injekttemp.: 225°, Trägergas: Helium) nicht einheitlich (vgl.

Fig. 12). Nach NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 10 und Tab. 2) handelt es sich um ein cis,trans-Isomerengemisch.

3.3. Hexahydromyrothecinsäure (5)

Farbloses Oel, das im DC (System: Benzol-Methanol-Ameisensäure-(50:10:1) einheitlich ist.

IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei: 2800 - 3350 (OH, assoz.), 1705 cm^{-1} (C=O, ges.)

NMR.-Spektrum vgl. Tab. 2. $[\alpha]_{589}^{23}$ = - 10,7° ± 1° $[\alpha]_{578}^{23}$ = 11,2° ± 1°, $[\alpha]_{546}^{23}$ = -12,6° ± 1°, $[\alpha]_{436}^{23}$ = - 18,9° ± 1°, $[\alpha]_{365}^{23}$ = -24,1° ± 1° (c = 2,325 in Chloroform).

5 lässt sich bei 0,01 Torr und 80 - 100° Badtemp. destillieren, wobei es sich aber zum Teil zersetzt.

3.4. Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6)

Eine Lösung von 510 mg 5 (aus Versuch 2.2.) in 20 ml Äther wurde bei 0° bis zur bleibenden Gelbfärbung mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 523 mg roher Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) als schwach gelb gefärbtes Oel erhalten, der an 50 g Kieselgel chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 8 - 10 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:0,5) (je 100 ml)) lieferten 304 mg reines 6 als farbloses Oel. Im DC einheitlich (Systeme: Methylenchlorid-Methanol-(100:1,5); Äther-Pentan-(1:1)). Im GC (vgl. Fig. 12) einheitlich (Ofentemp.: 170 - 190°, Injekttemp.: 225°, Trägergas: Helium). $[\alpha]_D^{23}$ = -10,0° ± 1° (c = 8,60 in Chloroform).

IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) (vgl. Fig. 9) u.a. Banden bei: 2950, 2870, 1730 (C=O, ges.), 1435, 1370, 1170, 1115 und 1015 cm^{-1}.

220 MHz-NMR.-Spektrum siehe Fig. 14 und Tab. 2.

Im hochauflösenden Massenspektrum (vgl. Fig. 15) Molekularion

bei m/e 316,186135 ± 0,008.

3.5. p-Brom-phenacylester (7) von Hexahydromyrothecinsäure (5)

28 mg 5 wurden mit 0,3 ml H_2O versetzt und mit 6 Tropfen 2N NaOH-Lösung neutralisiert. Dann wurde die Lösung mit 2N HCl angesäuert, bis Lackmuspapier gerade angefärbt wurde. Nach Versetzen mit einer Lösung von 56 mg p-Brom-phenacylbromid in 0,6 ml Äthanol wurde 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Rückstand zweimal aus Äthanol-Wasser umkristallisiert. Es resultierten 36 mg Kristalle vom Smp. 81-83,5°.

Zur Analyse wurde 4 Std. bei 80° getrocknet.

$C_{30}H_{24}O_8Br_2$	Ber. C 52,80	H 5,02	Br 23,42 %	
(744,4)	Gef. " 52,67	" 5,02	" 23,5 %	[25]

3.6. Hydrierung von Myrothecinsäure-dimethylester (4)

Eine Lösung von 13 mg 4 in 10 ml Äthanol wurde in Gegenwart von 10 mg vorhydriertem Pd (10 %) auf Aktivkohle bei 25°/742 Torr hydriert. Nach 3 Std. waren 3,2 Aequivalente Wasserstoff aufgenommen worden, worauf die Reaktion zum Stillstand kam. Der Katalysator wurde durch eine Schicht Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Es resultierten 12 mg Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6), der nach DC, GC (vgl. Fig. 12) und IR.-Spektrum mit 6 identisch war, das durch Hydrolyse von Octahydrororidin H (2) erhalten wurde.

4. Abbaureaktionen

4.1. Ozonolyse von Myrothecinsäure-dimethylester (4)

In eine Lösung von 57 mg 4 in wenig Essigester wurde bei - 70° bis zur deutlichen bleibenden Blaufärbung Ozon eingelei-

25) Die Brom-Bestimmung wurde im analytischen Laboratorium der Firma Sandoz A.G., Basel, durchgeführt (Leitung Dr. W. Schöniger).

tet. Hierauf wurde bei Zimmertemp. im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit 8 ml 2N HCl und 0,75 ml 30-proz. H_2O_2 versetzt und 3,5 Std. bei 65° gerührt. Nach sechsmaligem Ausschütteln der wässerigen Lösung mit Methylenchlorid und Waschen mit Sodalösung und Wasser, wurden 4,4 mg öliger Rückstand erhalten, der sich mit Diazomethan verestern liess und im DC UV.-aktiv war. Er war identisch mit 4.

Die restliche Lösung wurde darauf sechsmal mit Äther ausgeschüttelt, was nach Aufarbeitung 29,0 mg Rohprodukt ergab, das sich mit Diazomethan verestern liess. Es war nach GC und IR.-Spektrum identisch mit authent. Oxalsäure-dimethylester (9).

Die restliche Lösung wurde noch während 24 Std. mit Äther am Kutscher-Steudel-Apparat extrahiert. Nach Eindampfen der Extrakte wurden noch 5,0 mg Material erhalten, das sich aber nicht mit Diazomethan verestern liess. Es wurde nicht weiter untersucht.

4.2. Acetalspaltung von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6)

4.2.1. Mit 2N HCl: Eine Lösung von 110 mg 6 in wenig Dioxan, wurde mit wenig 2N HCl 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach Ausschütteln mit Äther, Waschen mit Wasser und Trocknen über $CaCl_2$ wurden 94 mg Rohprodukt erhalten, das mit Diazomethan verestert wurde. Es enthielt praktisch nur Ausgangsmaterial. Andere Bruchstücke konnten nicht isoliert werden.

4.2.2. Mit 3N HCl: 94 mg 6 wurden mit wenig 6N HCl versetzt, mit Dioxan auf doppeltes Volumen verdünnt und 7 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach sechsmaligem Ausschütteln mit Äther und Aufarbeiten analog zu 4.2.1. resultierten 95 mg Rohprodukt, das mit ätherischer Diazomethan-Lösung verestert und an 11 g Kieselgel chromatographiert wurde. Es wurden dabei folgende Substanzen eluiert (mit Methylenchlorid-Methanol-(100:0,25 bis 100:4)): 1.) 52 mg 6; 2.) 12,2 mg Material, das im DC

mehrere Flecke zeigte und deshalb nicht weiter untersucht wurde; 3.) 3,9 mg im DC einheitlicher 6,7-Dihydroxyoctansäuremethylester (11). IR.-Spektrum und Massenspektrum stimmten auf diese Struktur (Charakterisierung siehe bei 4.3.2.); 4.) 1,4 mg polares Material, das im DC nicht einheitlich war und deshalb verworfen wurde.

4.2.3. Mit CF_3-COOH: 49 mg 6 wurden mit wenig CF_3-COOH 24 Std. bei 22° stehengelassen. Die Lösung wurde dann mit gesättigter NaCl-Lösung versetzt und dreimal mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und analog zu 4.2.1. aufgearbeitet. Der Rückstand wurde mit ätherischer Diazomethanlösung behandelt. Er bestand praktisch nur aus Ausgangsmaterial 6. Es konnten keine anderen Bruchstücke isoliert werden.

4.2.4. Mit 0,2N H_2SO_4 in Methanol-H_2O: Eine Lösung von 94 mg 6 in 10 ml Methanol wurden mit 10 ml 0,4N H_2SO_4 96 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach Ausschütteln mit Äther und Aufarbeiten analog zu 4.2.1 wurden 65 mg Rückstand erhalten, der auf Dickschicht-Kieselgelplatten aufgetrennt wurde (System: Benzol-Äther-(4:6)). Es wurden folgende Zonen eluiert: 1.) 1,5 mg unpolares Material, das verworfen wurde; 2.) 30,0 mg Ausgangsmaterial 6; 3.) 6,0 mg 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11). (Charakterisierung siehe bei 4.3.2.); 4.) 11,0 mg Material, das am Start sitzen blieb und nicht weiter untersucht wurde.

4.2.5. Mit 0,2N H_2SO_4 und 2,4-Dinitrophenylhydrazin in Methanol-H_2O: Eine Lösung von 290 mg 6 in 30 ml Methanol wurde mit 30 ml 0,4N H_2SO_4 und 10 ml einer Lösung von 2,5 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 4 ml konz. H_2SO_4 und 100 ml Methanol 16 Std. am Rückfluss erhitzt. Die wässerige Lösung wurde darauf dreimal mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und die Methylenchlorid-Extrakte analog zu 4.2.1. aufgearbeitet. Es resultierten 499 mg öliges Rohprodukt, das im DC mehrere Flecke zeigte. Es wurde an 50 g Kieselgel chromatographiert.

Die Fraktionen 1 - 4 (eluiert mit Methylenchlorid, je 50 ml) ergaben 29 mg im DC nicht einheitliches Material, das verworfen wurde.

Die Fraktionen 5 und 6 (eluiert mit Methylenchlorid, je 50 ml) lieferten 241 mg DC reines 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13), das aus Essigester-Pentan umkristallisiert wurde. Charakterisierung siehe bei 4.3.1.

Die Fraktionen 7 - 9 (eluiert mit Methylenchlorid, je 50 ml) ergaben 61 mg 13, das noch mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin verunreinigt war. Durch Trennung auf Kieselgel-Dickschichtplätten wurden weitere 37 mg reines 13 erhalten.

Die Fraktionen 10 - 29 (eluiert mit Methylenchlorid und steigenden Mengen Methanol, bis 2 %, je 100 ml) ergaben 40 mg Gemisch, das verworfen wurde.

Die Fraktionen 30 - 33 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:4) (je 100 ml)) lieferten 121 mg rohen 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11). Durch Destillation bei 0,01 Torr und 80° Badtemp. wurden 111 mg reines 11 als farblose Flüssigkeit erhalten. Charakterisierung siehe bei 4.3.2.

Die Fraktionen 34 - 37 (eluiert mit Methylenchlorid-Methanol-(100:5 bis 100:10) (je 100 ml)) ergaben noch 6 mg Gemisch, das verworfen wurde.

Die restliche wässerige Lösung wurde noch sechsmal mit Äther ausgeschüttelt. Nach Aufarbeitung wurden 24 mg rohes 11 erhalten, das nach Destillation bei 0,01 Torr und 80° Badtemp. weitere 21 mg reines 11 lieferte.

4.3. Charakterisierung der Bruchstücke der Acetalspaltung

4.3.1. 3-Methylglutarsäurealdehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon (13)

13 kristallisiert aus Essigester-Pentan oder Methylenchlorid-Pentan in rötlich-gelben Nadeln vom Smp. 87 - 89,5°. Im IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) (vgl. Fig. 16) u.a. Banden bei: 3300 (NH-Valenzschwingung), 2945, 1730 (C=O,

ges.), 1615, 1590, 1515, 1330 (NO_2-Valenzschwingung), 1305, 1220, 1170, 1145, 1080, 920 und 835 cm^{-1}.

NMR.-Spektrum vgl. Fig. 17 und Tab. 2.

Im Massenspektrum (vgl. Fig. 18) Molekularion bei m/e 324.

Zur Analyse wurde 16 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{13}H_{16}N_4O_6$ (324,3) Ber. C 48,15 H 4,97 N 17,28 %
Gef. " 48,06 " 4,93 " 17,22 %

4.3.2. 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11)

Farblose Flüssigkeit. Im DC (System:Methylenchlorid-Methanol-(100:5)) einheitlich. Im GC (Ofentemp.: 150°, Injekt.-temp. 195°, Trägergas: Helium) einheitlich. $[\alpha]_{589}^{23}$ = - 15,5° ± 1°; $[\alpha]_{578}^{23}$ = - 16,2° ± 1°; $[\alpha]_{546}^{23}$ = - 18,2° ± 1°; $[\alpha]_{436}^{23}$ = -29,5° ± 1°; $[\alpha]_{365}^{23}$ = - 44,2° ± 1° (c = 1,223 in Chloroform).

Im IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) (vgl. Fig. 19) u.a. Banden bei: 3300 - 3700 (OH, assoz.), 2940, 2865, 1730 (C=O, ges.) 1430, 1365, 1200, 1170, 1095 und 1045 cm^{-1}.

100 MHz-NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 20 und Tab. 2). Massenspektrum vgl. Fig. 21.

4.3.3. p-Nitrobenzoat (12) von 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11)

Eine Lösung von 18 mg 11 in 1,4 ml abs. Pyridin wurde mit 72 mg p-Nitrobenzoylchlorid 4 Std. am Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde dann mit Äther verdünnt, filtriert, dreimal mit 2N Na_2CO_3-Lösung und zweimal mit H_2O gewaschen. Das nach Eindampfen erhaltene Rohprodukt (46 mg) wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert (Lösungsmittel: Methylenchlorid). Es resultierten 36 mg DC reines Dibenzoat 12, das bisher nicht kristallisierte.

Im IR.-Spektrum (Methylenchlorid, Beckman IR 8) u.a. Banden bei: 1725 (C=O, ges.), 1605, 1527 und 1348 (NO_2-Schwingung), 1250 (C-O-C-Schwingung), 870, 840 cm^{-1} (p-Subst.), keine OH-Bande mehr vorhanden.

4.4. Hydrazonspaltung und Oxidation von 3-Methylglutarsäure-aldehyd (10)

4.4.1. Mit H_2SO_4: Eine Lösung von 47,5 mg 13 in 0,5 ml Äthanol wurde mit 1,25 ml 2N H_2SO_4 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Im DC war noch sehr viel 13 vorhanden. Die Lösung wurde deshalb mit 5 Tropfen konz. H_2SO_4 versetzt und weitere 6 Std. am Rückfluss erhitzt, anschliessend mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und die Methylenchlorid-Extrakte mit H_2O gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt enthielt hauptsächlich 13. Es wurde in 1 ml Äthanol gelöst und mit 1 ml 12N H_2SO_4 5 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach Aufarbeiten analog zu obigem Versuch wurden 43 mg Rückstand erhalten, der auf einer Dickschicht-Kieselgelplatte aufgetrennt wurde (Fliessmittel: Methylenchlorid-Methanol-(100:0,5)). Die weiter laufende Zone ergab 27,5 mg Hydrazon 13. Eine polare Zone, die aus mehreren Flecken bestand, ergab 9,3 mg Gemisch, das in 3 ml Aceton (über $KMnO_4$ destilliert) gelöst und mit 2 Tropfen Jones-Reagens [26] versetzt wurde. Nach 5 Min. wurde die Lösung mit H_2O verdünnt, mit NaCl gesättigt, mit Äther ausgeschüttelt. Die Äther-Extrakte ergaben nach Eindampfen 9 mg Rohprodukt, das mit ätherischer Diazomethanlösung behandelt wurde. Im GC war keine Spitze mit einer dem 3-Methylglutarsäure-dimethylester entsprechenden Retensionszeit vorhanden.

4.4.2. Mit HCl in Anwesenheit von 2,4-Dinitrobenzaldehyd

Eine Lösung von 31 mg Hydrazon 13 in 2 ml Äthanol wurde mit 2 ml 2N HCl und 50 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd während 15 Std. am Rückfluss erhitzt. Nach Ausschütteln mit Äther und Aufarbeiten analog zu 4.4.1. wurde der Rückstand auf einer Dickschicht-Kieselgelplatte aufgetrennt (Fliessmittel: Methylenchlorid-Methanol-(100:1)). Es wurden folgende Zonen eluiert: 1.) Eine unpolare Zone, die 44 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd lieferte; 2.) Eine weniger weit laufende Zone, die 24 mg Hydrazon 13 ergab; 3.) Eine polare Zone, die 8,3 mg im DC einheitliches Material lieferte, welches nach Behandeln

26) CrO_3-Oxidationslösung nach Jones [17]: 13,33 g CrO_3 + 11,5 ml konz. H_2SO_4 + H_2O ad. 50 ml.

mit ätherischer Diazomethanlösung 13 ergab.

In einem weiteren Versuch wurden 34 mg 13, 3 ml 2N HCl und 34 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd 48 Std. am Rückfluss erhitzt. Das nach Ausschütteln mit Äther und Aufarbeiten erhaltene Rohprodukt (18 mg) wurde mit ätherischer Diazomethanlösung behandelt und wie oben mit Jones-Reagens [26] oxidiert. Das durch Oxidation erhaltene Rohprodukt wurde nochmals mit Diazomethan behandelt. Es zeigte im GC eine schwache Spitze mit gleicher Retensionszeit wie 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15).

4.4.3. Mit Äthanol in Anwesenheit von 2,4-Dinitrobenzaldehyd im Bombenrohr

32 mg 13, 96 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd, 2 ml Äthanol und 2 ml H_2O wurden im Bombenrohr 16 Std. bei 215° erhitzt. Im DC des nach Isolierung analog zu 4.4.1. erhaltenen Rohprodukts war neben Hydrazon 13 und 2,4-Dinitrobenzaldehyd wenig 2,4-Dinitrobenzaldehydhydrazon nachweisbar. Das Gemisch wurde nicht weiter aufgetrennt.

4.4.4. Mit HCl in Anwesenheit von 2,4-Dinitrobenzaldehyd im Bombenrohr

30 mg 13, 30 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd und 3 ml 2N HCl wurden im Bombenrohr 6 Std. auf 150 - 160° erhitzt. Da nach DC immer noch viel Ausgangsmaterial 13 vorhanden war, wurde weitere 6 Std. auf 196 - 200° erhitzt. Im DC waren danach nur noch Spuren 13 vorhanden. Die saure Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Äther-Extrakte analog zu 4.4.1. aufgearbeitet, was 40 mg rotbraun gefärbtes Rohprodukt ergab. (Im DC waren zum grössten Teil 2,4-Dinitrobenzaldehyd neben Spuren von 2,4-Dinitrobenzaldehyd-hydrazon vorhanden). Der Rückstand wurde mit ätherischem Diazomethan behandelt, in 3 ml Aceton gelöst und mit Jones-Reagens [26] oxidiert. Nach Ausschütteln der Lösung mit Äther und Aufarbeiten analog zu 4.4.1. wurde der Rückstand nochmals mit Diazomethan behandelt und anschliessend auf einer Kieselgel-Dickschichtplatte aufgetrennt (Fliessmittel:

Methylenchlorid-Methanol-(100:1)). Es resultierten 10 mg roher 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15), der im GC eine starke Spitze zeigte, die mit authentischem 15 identisch war. Das Präparat wurde im Molekularkolben bei 18 Torr und 80° Badtemp. zweimal destilliert. Dadurch wurden 4,4 mg Oel erhalten, das ca. 70 % Dimethylester 15 enthielt. Es wurde nicht mehr weiter gereinigt. Das Präparat war nach DC, GC (vgl. Fig. 22), IR.-Spektrum und Massenspektrum identisch mit authent. 15.

In einem weiteren Versuch wurden 32 mg Hydrazon 13, 96 mg 2,4-Dinitrobenzaldehyd, 2 ml Äthanol und 2 ml 3N HCl 2 Std. im Bombenrohr auf 215° erhitzt. Nach dem wie oben beschriebenen Aufarbeiten resultierten nach Destillation im Molekularkolben 2,4 mg Dimethylester 15, der aber nur zu ca. 50 % rein war.

4.5. Spaltung von 6,7-Dihydroxyoctansäure-methylester (11) mit Perjodsäure

4.5.1. Isolierung des Acetaldehyds als Dimedonderivat

Eine Lösung von 12 mg Diol 11 in 1,25 ml H_2O wurde mit 20 mg $HJO_4 \cdot 2H_2O$ 7 Std. bei 22° gerührt. Nach Versetzen der Reaktionslösung mit 6 ml H_2O wurde der Acetaldehyd 18 in eine Vorlage mit 25 mg Dimedon in 1,25 ml Äthanol-H_2O-(2:3) (pH 4 - 5) destilliert. Nachdem ca. 4 ml Flüssigkeit destilliert hatten, wurde das Destillat 30 Min. auf 65 - 70° erwärmt. Da sich nach Abkühlen kein Niederschlag, sondern nur eine Trübung bildete, wurde die wässerige Lösung dreimal mit Äther ausgeschüttelt und die Äther-Auszüge eingedampft. Der Eindampfrückstand wurde mit 1 ml Äthanol und 2 Tropfen konz. HCl 5 Min. am Rückfluss erhitzt. Hierauf wurde mit H_2O verdünnt und dreimal mit Äther ausgeschüttelt und die Äther-Auszüge eingedampft. Es resultierten 23,5 mg Rohprodukt, das im DC einen Fleck zeigte, der mit authentischem Anhydrid 21 von Acetaldehyd-dimedonat identisch war. Das Präparat wurde auf Kieselgel -Dickschichtplatten gereinigt (Fliessmittel: Methylenchlorid-Methanol-(100:6) und Benzol-Äther-(4:6)). Nach dreimaliger Chromatographie wur-

den 6,0 mg Kristalle erhalten, die aus Methanol-H_2O 2,5 mg reines Acetaldehyd-dimedon-Anhydrid (21) vom Smp. 165 - 171° ergaben. Misch-Smp. mit authent. Material war 165 - 172°.

Im IR.-Spektrum (KBr, P.E., Mod. 125) u.a. Banden bei: 2904, 1661, 1651, 1621, 1377, 1250, 1211, 1170, 1141, 1026, 1006 und 911 cm^{-1}.

Im Massenspektrum Molekularion bei m/e 288. Nach DC, IR.- und Massenspektrum identisch mit authent. 21.

4.5.2. Isolierung der Adipinsäure (19)

Eine Lösung von 30 mg Diol 11 in 2,5 ml H_2O wurde mit 40 mg $HJO_4 \cdot 2H_2O$ 8 Std. bei 22° stehengelassen. Die saure wässerige Lösung wurde anschliessend mit 2N Na_2CO_3-Lösung auf pH 5 gebracht, mit NaCl gesättigt und mit ges. NaCl-Lösung auf 5ml verdünnt. Nach sechsmaligem Ausschütteln mit Äther, Trocknen und Eindampfen der Äther-Auszüge wurde das Rohprodukt (21,7 mg) in 3 ml frisch über $KMnO_4$ dest. Aceton gelöst und unter Rühren bei 50° mit 0,2 ml Jones-Reagens [26] oxidiert. Nach 10 Min. wurde mit ca. 5 ml H_2O verdünnt, das Aceton im Vakuum entfernt, das Reaktionsgemisch mit NaCl gesättigt und die Lösung sechsmal mit Äther ausgeschüttelt, die Äther-Auszüge getrocknet und eingedampft und der Eindampfrückstand mit ätherischem Diazomethan verestert. Es resultierten 19,0 mg Adipinsäure-dimethylester (20) der im GC identisch war mit authent. Präparat (vgl. Fig. 23).

Zur Hydrolyse wurden 26 mg Dimethylester 20 mit 0,25 ml 20-proz. NaOH-Lösung 1 Std. am Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde anschliessend mit H_2O verdünnt, angesäuert, mit NaCl gesättigt und mit Äther ausgeschüttelt, die Äther-Auszüge getrocknet und eingedampft. Es wurden 12 mg rohe Adipinsäure (19) erhalten, die bei 0,01 Torr und 140° sublimiert wurde. Das Sublimat ergab nach dreimal Umkristallisieren aus Methanol-Äther-Petroläther 4,8 mg reine Adipinsäure (19) vom Smp. 148 - 151°. Nach Misch-Smp. und IR.-Spektrum identisch mit authent. Präparat.

Zur Analyse wurde 14 Std. bei 50° getrocknet.

$C_6H_{10}O_4$ (146,1) Ber. C 49,31 H 6,90 %
Gef. " 49,42 " 7,04 %

Anhang

Versuche zur Bestimmung der absoluten Konfiguration der (-)-2-Methylpimelinsäure

1. (±)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat [15]

350 g eines Isomerengemisches von cis,trans-2-Methylcyclohexanol (Fluka, ca. 65 % trans) und 475 g Phtalsäureanhydrid, 24 Std. auf 130 - 140° erhitzt, ergaben ca. 640 g rohe Phtalestersäure (Smp. ca. 90°). Durch sechsmaliges Umkristallisieren aus Eisessig oder Petroläther (Sdp. 70°)-Eisessig-(4:1) konnten 200 g trans-Phtalat vom Smp. 124 - 125,5° (Lit.: 125,2 - 125,8° [15]) gewonnen werden (Reinheit ca. 98 %).

2. Optisch aktives trans-2-Methylcyclohexanol [16]

(±)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat bildet mit Strychnin ein krist. Salz. Ausgehend von 200 g Material konnten durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton und Spaltung des Strychninsalzes mit HCl angereicherte Mengen Phtalat (ca. 50 g) $[\alpha]_D^{23}$ = + 30° resp. - 30° erhalten werden. Diese angereicherten Phtalate wurden getrennt dreimal aus Eisessig umkristallisiert, wobei jeweilen das Kristallisat einen tieferen Drehwert, die Mutterlauge aber einen höheren Drehwert zeigte. Nachdem auf diese Weise genügend Phtalat (ca. 10 g) $[\alpha]_D^{23}$ = + 55° resp. - 55° gesammelt worden war, wurde dieses nochmals getrennt mit Strychnin versetzt und so lange fraktionniert aus Aceton umkristallisiert (ca. zehn- bis zwölfmal), bis sich nach Spaltung des Strychninsalzes mit HCl der Drehwert des Phtalats nicht mehr

änderte. Die optisch reinen Phtalate zeigten folgende Drehwerte:

(±)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat $[\alpha]_D^{23}$ = + 69,8° ± 1° [27]
(c = 0,827 in Benzol)

(-)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat $[\alpha]_D^{23}$ = - 70,3° ± 1°
(c = 0,998 in Benzol)

2,5 g (-)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat wurden mit 12,5 ml 4,5-proz. KOH-Lösung versetzt und die Lösung einer Dampfdestillation unterworfen. Das Destillat wurde viermal mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherextrakte getrocknet und eingedampft. Es resultierten 250 mg schwach gelbes, zähflüssiges Oel, das im Kugelrohr bei 16 Torr und 90° Ofentemp. destilliert wurde. Nach einmaligem Destillieren wurden 950 mg reines (-)-trans-2-Methylcyclohexanol als farbloses Oel erhalten $[\alpha]_D^{23}$ = - 36,0° ± 1° (c = 1,983 in Chloroform).

Die analoge Verseifung von 2,5 g (+)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat lieferte nach Destillation 990 mg reines (+)-trans-2-Methylcyclohexanol von $[\alpha]_D^{23}$ = + 35,4° ± 1°(c = 0,758 in Chloroform).

3. (-)-2-Methylcyclohexanon [17] [18]

835 mg (-)-trans-2-Methylcyclohexanol wurden mit 22 ml frisch über $KMnO_4$ destilliertem Aceton innerhalb 4 Min. mit 2 ml Jones-Reagens [26] unter Rühren versetzt und noch weitere 3 Min. gerührt. Die Lösung wurde hierauf mit viel H_2O verdünnt, das Aceton im Vakuum entfernt, mit NaCl gesättigt und viermal mit Äther ausgeschüttelt. Die Äther-Auszüge wurden mit ges. NaCl-Lösung und H_2O gewaschen, getrocknet und der Äther über eine Vigreux-Kolonne abdestilliert. Der Rückstand wurde im Kugelrohr bei 14 Torr und 70° Ofentemp. destilliert. Es resultierten 354 mg reines (-)-2-Methylcyclohexanon von $[\alpha]_D^{23}$ = - 14° ± 1° (c = 1,324 in Methanol).

In analoger Weise wurden 864 mg (+)-trans-2-Methylcyclohexanol nach Jones oxidiert, wobei 550 mg reines (+)-2-Methyl-

cyclohexanon von $[\alpha]_D^{23}$ = + 14,5° ± 1° (c = 1,13o in Methanol) erhalten würden.

4. (-)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon [19] [20] [21]

500 mg (-)-2-Methylcyclohexanon in einer Lösung von 100 mg Natrium in 2 ml abs. Alkohol wurden unter Rühren bei - 5° und Feuchtigkeitsausschluss portionenweise mit 750 mg Oxalsäure-diäthylester versetzt und 3 Std. bei - 5° und anschliessend weitere 12 Std. bei 8° gerührt. Die Lösung wurde in 15 ml eisgekühlte 10-proz. H_2SO_4 eingetragen und viermal mit Äther ausgeschüttelt. Die Äther-Auszüge wurden mit H_2O gewaschen, über $CaCl_2$ getrocknet und der Äther über eine Kolonne abdestilliert. Aus dem Rückstand wurde bei 0,01 Torr und 53° Badtemp. Oxalsäure-diäthylester abdestilliert, der nicht reagiert hatte. Der restliche Rückstand wurde bei 18 Torr mit wenig Glaspulver im Kugelrohr zur Decarbonylierung auf 150° erhitzt, wobei der decarbonylierte Ester destillierte. Weitere Reinigung durch Kugelrohrdestillation ergab (-)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon, das im GC nur noch Spuren von Oxalsäure-diäthylester zeigte. $[\alpha]_D^{23}$ = - 2,3° ± 1° (c = 1,013 in Chloroform).

Aus (+)-2-Methylcyclohexanon wurde auf analoge Weise (+)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon von $[\alpha]_D^{23}$ = + 3,26° ± 1° (c = 1,87 in Chloroform) erhalten.

5. (-)-2-Methylpimelinsäure [22]

Zu einer siedenden Lösung von 1,61 g Natrium in 18 ml n-Amylalkohol wurde unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluss im Verlauf einer halben Stunde ein Gemisch von 420 mg (-)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon und 4,5 ml n-Amylalkohol zuge-

27) G.A.C. Gough et al. [16] fanden folgende Drehwerte:
(+)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat $[\alpha]_D^{23}$ = + 63,2° (c = 2,84 in Benzol)
(-)-trans-2-Methylcyclohexanyl-phtalat $[\alpha]_D^{23}$ = - 63,5° (c = 2,85 in Benzol)

tropft, anschliessend 2 Std. am Rückfluss weiter gerührt und über Nacht stehengelassen. Die gelatinöse Masse wurde anschliessend mit 25 ml H_2O versetzt, die alkoholische Phase abgetrennt und zweimal mit H_2O gewaschen. Die vereinigten wässerigen Phasen wurden durch Ausäthern vom Amylalkohol befreit, mit konz. HCl kongosauer gestellt und viermal mit Äther ausgeschüttelt. Nach Aufarbeiten wurden 493 mg rohe, schlecht riechende 2-Methylpimelinsäure erhalten, die auf Dickschicht-Kieselgelplatten gereinigt und anschliessend zweimal aus Äther-Petroläther umkristallisiert wurde. Die reine Säure zeigte einen Smp. von 52 - 53°. $[\alpha]_D^{23}$ = - 0,74° ± 1° (c = 3,36 in Chloroform).

Zur Analyse wurde 8 Std. bei 30° getrocknet.

$C_8H_{14}O_4$ Ber. C 55,42 H 8,11 % Gef. C 55,16 H 8,10 %
(174,2)

Auf analoge Weise wurde aus (+)-6-Carbäthoxy-2-methylcyclohexanon (+)-2-Methylpimelinsäure von $[\alpha]_D^{23}$ = + 0,7° ± 1° (c = 1,421 in Chloroform) erhalten.

Ein aus (-)-2-Methylpimelinsäure hergestellter p-Bromphenacylester zeigte folgende Drehwerte: $[\alpha]_{589}^{23}$ = - 0,89° ± 1°; $[\alpha]_{578}^{23}$ = - 1,26° ± 1°; $[\alpha]_{546}^{23}$ = - 0,89° ± 1°; $[\alpha]_{436}^{23}$ = - 1,65° ± 1° (c = 1,03 in Chloroform).

Literaturverzeichnis

[1] E. Härri, W. Loeffler, H.P. Sigg, H. Stähelin, Ch. Stoll, Ch. Tamm und D. Wiesinger, Helv. 45, 839 (1962).

[2] B. Böhner, E. Fetz, E. Härri, H.P. Sigg, Ch. Stoll und Ch. Tamm, Helv. 48, 1079 (1965).

[3] W. Zürcher und Ch. Tamm, Helv. 49, 2594 (1966).

[4] M. E. Rüsch und H. Stähelin, Arzneimittel-Forschung 15, 893 (1965).

[5] J. Gutzwiller und Ch. Tamm, Helv. 48, 157 (1965).

[6] J. Gutzwiller und Ch. Tamm, Helv. 48, 177 (1965).

[7] E. Fetz, B. Böhner und Ch. Tamm, Helv. 48, 1669 (1965).

[8] B. Böhner und Ch. Tamm, Helv. 49, 2527 (1966).

[9] B. Böhner und Ch. Tamm, Helv. 49, 2547 (1966).

[10] W. Zürcher und Ch. Tamm, unpublizierte Versuche.

[11] J. Gutzwiller, R. Mauli, H.P. Sigg und Ch. Tamm, Helv. 47, 2234 (1964).

[12] P. Pfäffli und Ch. Tamm, Helv. 52, 1911 (1969).

[13] Ch. Tamm et al., spätere Mitteilung.

[14] E. Fetz, Dissertation, Basel 1964.

[15] W. Hückel und A. Hubele, Ann. 613, 27 (1958).

[16] G.A.C. Gough, H. Hunter and J. Kenyon, J. Chem.Soc. (1926) 2052.

[17] R. G. Curtis, J. Heilbron, E. R. H. Jones and G. F. Woods, J. Chem. Soc. (1939), 461.

[18] C. Beard, D. Djerassi, J. Sichier, F. Šipoš and M. Tichý, Tetrahedron 926 (1963).

[19] A. Kötz und L. Hesse, Ann. 342, 315 (1905).

[20] R. D. Haworth and J. D. Hobson, J. Chem. Soc. (1951), 567.

[21] E. Black, G. L. Buchanan and A. W. Jarvie, J. Chem. Soc. (1956) 2972.

[22] M. Mousseron et J. Jullien, Bull. Soc. Chim. Fr. 1947, 605.

[23] Vgl. W. Simon and W. Tomlinson, Chimia 14, 305 (1960). W. Simon, Internat. Symp. on Microchem. Techn., Aug. 13 - 18, 1961, The Pennsylvania State Univ.

[24] L. M. Jackman, "Applications of NMR.-Spectroscopy in Org. Chem.", Pergamon Press, London, 2nd Ed. 1967, p. 25.

[25] Varian-Katalog, Bd. 1, Spektrum Nr. 114.

[26] Varian-Katalog, Bd. 1, Spektren Nr. 53 und 54.

[27] J. A. Elvidge and L. M. Jackman, Proc. Chem. Soc. (1959) 89.

[28] C. Grundmann, Ber. deutsch. Chem. Ges. 69, 1756 (1936).

[29] H. Budzikiewicz, D. Djerassi, D. H. Williams, "Mass Spectroscopy of Org. Comp.", Holden-Day, Inc. (1967) p. 258 - 262.

[30] D. H. Williams and I. F. Fleming, "Spektroskop. Methoden in der Org. Chemie", G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1968) p. 153.

[31] siehe 29, p. 176.

[32] siehe 29, p. 180.

[33] F. Weiss, A. Isard, A Lantz, G. Bonnard et J. Serpinet, Bull. Soc. Chim. Fr. (1965), 3677.

[34] Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie", Bd. VI/3, p. 272 (1965).

[35] siehe 29, p. 402.

[36] siehe 29, p. 104 - 105.

[37] Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie",, Bd. VII/1 p. 474 - 477 (1954).

[38] Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie," Bd. VII, 352, 357 (1954).

[39] Houben-Weyl, "Methoden der Org. Chemie", Bd. 11, p. 456 (1953).

[40] A. J. Vogel "Practical Org. Chemistry", Longmans (1958), p. 332.

[41] W. Zürcher, J. Gutzwiller und Ch. Tamm, Helv., 48, 840 (1965).

[42] A. T. McPhail and G. A. Sim, Chem. Comm. 1965 (350), J. Chem. Soc. (1966), 1394.

[43] R. S. Achini und Ch. Tamm, Helv. 51, 1712 (1968).

[44] M. Karplus, J. Chem. Phys. 30, 11 (1959).

[45] Vgl.T. Reichstein und C. W. Shoppee, Discuss. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

[46] G. R. Duncan, J. Chromatography, 8, 37 (1962).

[47] Vgl.E. Stahl, "Dünnschichtchromatographie", Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1962; K. Randerath, "Dünnschichtchromatographie", Verlag Chemie, Weinheim 1962.

[48] Zur Methode vgl. F. J. Ritter und G. Meyer, Nature 193, 941 (1962); C. G. Honegger, Helv. 45, 1409 (1962), H. Halpaap, Chem. Ing. Technik 35, 488 (1963).

Zusammenfassung

Für Roridin H, einem aus Kulturen von Myrothecium verrucaria (Stamm S 1198) von B. Böhner et al. [2] isolierten Antibioticum hatte Fetz [14] eine Strukturformel vorgeschlagen. Das ursprüngliche Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die absolute Konfiguration der von Fetz [14] aus Octahydrororidin H erhaltenen (-)-2-Methylpimelinsäure zu bestimmen. Doch zeigte sich, dass die postulierte Struktur nicht richtig ist, denn nicht alle entscheidenden Reaktionen, worunter auch die Bildung der (-)-2-Methylpimelinsäure, waren reproduzierbar. Es wurde zunächst ein neues Präparat von Roridin H bereitet und festgestellt, dass es mit dem von Fetz seinerzeit beschriebenen Material identisch ist. Auf Grund der weiteren, im folgenden beschriebenen physikalischen und chemischen Eigenschaften besitzt Roridin H die Strukturformel 1.

Die Bruttoformel von $C_{29}H_{36}O_8$ für Roridin H (1) ergab sich aus den hochaufgelösten Massenspektren von 1 und von Octahydrororidin H (2).

Die alkalische Hydrolyse von 1 lieferte zwei Bruchstücke, nämlich den bekannten Sesquiterpenalkohol Verrucarol (8) und Myrothecinsäure (3), eine unbekannte Dicarbonsäure. Die analoge Hydrolyse von Octahydrororidin H (2) ergab Dihydroverrucarol (9) und Hexahydromyrothecinsäure (5).

Aus dem 100 MHz NMR.-Spektrum mit Spin-Spin-Entkopplungsversuchen von Myrothecinsäure-dimethylester (4) und einem hochaufgelösten Massenspektrum von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) liess sich die Strukturformel 3 für die Myrothecinsäure ableiten. Daraus ergibt sich für Roridin H die Konstitution 1.

In Roridin H sind das H-Atom an C-2' und die Methylgruppe an C-3' cis-ständig angeordnet. Die Atome C-5' und C-6' sowie C-5' und C-13' sind je durch eine Sauerstoffbrücke in Form eines Acetals miteinander verbunden. Auf Grund der Kopplungskonstanten der H-Atome an C-6' und C-13' folgt, dass sie cisständig zueinander angeordnet sind. Die absolute Konfiguration dieser beiden chiralen C-Atome ist noch abzuklären.

Die Struktur 3 von Myrothecinsäure wurde auch chemisch durch den Abbau von Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester (6) wie folgt bewiesen:

Spaltung der Acetalgruppierung von 6 mit Säure in Anwesenheit von 2,4-Dinitrophenylhydrazin lieferte 3-Methylglutarsäurealdehyd, der als 2,4-Dinitrophenylhydrazon isoliert wurde, und 6,7- Dihydroxyoctansäure-methylester (11).

Spaltung des Hydrazons 13 mit nachfolgender Oxidation des Aldehyds und Veresterung ergab den bekannten 3-Methylglutarsäure-dimethylester (15).

Aus der Spaltung der Diolgruppierung von 11 mit Perjodsäure resultierten Acetaldehyd (18), der durch das Dimedonderivat 21 charakterisiert wurde, und Adipinsäurealdehyd (17), der zu Adipinsäure (19) oxidiert wurde.

In Roridin H sind die beiden Hydroxylgruppen von Verrucarol mit den beiden Carboxylgruppen der Myrothecinsäure verknüpft, nämlich die C-1'-Carboxylgruppe mit der primären C-15-Hydroxylgruppe und die doppelt konjugierte C-11'-Carboxylgruppe mit der sekundären C-4-Hydroxylgruppe von Verrucarol.

Die 220 MHz NMR.-Spektren von Roridin H und Hexahydromyrothecinsäure-dimethylester erlaubten eine eindeutige Zuordnung der meisten Protonen des Antibioticums.

Roridin H ist somit strukturell eng verwandt mit Roridin A [8], Roridin D [9] und Roridin E [10]. Es stellt eine bemerkenswerte biogenetische Variante dieser Metabolitenfamilie dar.

Curriculum vitae

Am 19. Oktober 1942 wurde ich, Peter Martin Traxler, in Sirnach (Kanton Thurgau) als Sohn des Martin Traxler, Primarlehrer, und seiner Frau Maria Traxler, geb.Knecht, Klavierlehrerin, geboren. Dort besuchte ich während eines Jahres die Primarschule. Im Jahre 1950 siedelten meine Eltern nach Allschwil um, wo ich weitere vier Jahre die Primarschule besuchte. 1954 trat ich in das Mathematisch-Naturwissenschaftliche Gymnasium ein, wo ich im Frühling 1962 die Maturität bestand.

Im Sommersemester 1962 begann ich das Chemiestudium an der Universität Basel. Das 1. Vordiplomexamen bestand ich im Herbst 1963, und die 2. Vordiplomprüfung legte ich im Herbst 1965 mit Zoologie als Wahlfach ab. Das Diplom für Chemie erwarb ich im Herbst 1966. Im November desselben Jahres begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Ch. Tamm mit der Ausarbeitung meiner Doktorarbeit über "Die Struktur des Antibioticums Roridin H".

Der Schweiz. Gesellschaft für Chemische Industrie danke ich für die Gewährung eines Doktoranden-Stipendiums.

Folgenden Herren Professoren und Dozenten verdanke ich meine Ausbildung:

H. Balli, F. Baumgartner, M. Brenner, P. Buchner, H. Erlenmeyer, S. Fallab, C. Grob, E. Heilbronner, P. Huber, A. Marxer, E. Miescher, R. Müller, H. Nüesch, A. Portmann, P. Schiess, Ch. Tamm, M. Thürkauf, R. Wizinger, R. F. Zürcher.